

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2003-137807

(P2003-137807A)

(43)公開日 平成15年5月14日(2003.5.14)

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード*(参考)
A 6 1 K 38/00		A 2 3 L 1/305	4 B 0 1 8
A 2 3 L 1/305		A 6 1 K 31/375	4 C 0 8 3
A 6 1 K 31/375		31/59	4 C 0 8 4
31/59		31/704	4 C 0 8 6
31/704		31/728	4 H 0 4 5
審査請求 未請求 請求項の数59 O L (全 22 頁) 最終頁に続く			

(21)出願番号 特願2001-337062(P2001-337062)

(22)出願日 平成13年11月1日(2001.11.1)

(71)出願人 391024353

宮城化学工業株式会社

宮城県仙台市若林区若林2丁目7番1号

(72)発明者 酒井 康夫

仙台市若林区若林二丁目7番1号 宮城化学工業株式会社内

(74)代理人 100095359

弁理士 須田 篤

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 コラーゲン産生促進剤、それを含む化粧品、食品および医薬品ならびに皮膚疾患の予防または改善用外用剤

(57)【要約】

【課題】少量の摂取でも効率よく、速やかに消化吸収されるコラーゲン産生促進剤、機能性食品、医薬品、骨芽細胞または線維芽細胞の増殖促進剤、骨の強化または密度向上剤、生体組織の新陳代謝促進剤、皮膚賦活剤、皮膚または骨の加齢による機能低下の予防または改善剤、骨粗鬆症の予防または改善剤、慢性関節リウマチまたは変形関節症の改善剤、骨折治癒または創傷治癒の促進剤、皮膚疾患の予防または改善用外用剤、人工透析による皮膚掻痒感の改善用外用剤、アトピー性皮膚炎による皮膚掻痒感の改善用外用剤、皮膚のテープかぶれの予防または改善用外用剤および糖尿病による皮膚のひび割れの改善用外用剤、ならびに培養皮膚または人工皮膚の生成用調製剤を提供する。

【解決手段】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)および(Gly-Pro-Ser)の一般式で示されるトリペプチドの混合物を有効成分とする。

(A)



<投与24時間後(投与回数:1回)>

(B)



<投与24時間後(投与回数:5回)>

(C)



<投与24時間後(投与回数:12回)>

【特許請求の範囲】

【請求項1】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-X1)、X1はAla、Arg、Asp、Hyp、Lys、SerもしくはVal、(Gly-Asp-X2)、X2はAlaもしくはThr、(Gly-Gln-X3)、X3はGlu、HypもしくはSer、(Gly-Pro-X4)、X4はAla、Arg、Hyp、Hyl、Gln、Met、Ile、Lys、Pro、Ser、ThrもしくはVal、(Gly-Ser-X5)、X5はAla、GluもしくはHyp、(Gly-Lys-X6)、X6はAsp、ProもしくはSer、(Gly-Leu-Hyp)、または(Gly-Val-X7)、X7はHypもしくはArgの一般式で示されるトリペプチドの1種または2種以上の混合物を有効成分とすることを特徴とするコラーゲン産生促進剤。

【請求項2】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)および(Gly-Pro-Ser)の一般式で示されるトリペプチドの混合物を有効成分とすることを特徴とするコラーゲン産生促進剤。

【請求項3】コラーゲンまたはゼラチンをコラゲナーゼ酵素を用いて分解、精製して得られたものであることを特徴とする請求項1または2記載のコラーゲン産生促進剤。

【請求項4】アミノ酸を用いた合成技術または発酵技術によって得られたものであることを特徴とする請求項1または2記載のコラーゲン産生促進剤。

【請求項5】請求項1、2、3または4記載のコラーゲン産生促進剤を含むことを特徴とする化粧品。

【請求項6】請求項1、2、3または4記載のコラーゲン産生促進剤を含むことを特徴とする食品。

【請求項7】請求項1、2、3または4記載のコラーゲン産生促進剤を含むことを特徴とする医薬品。

【請求項8】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-X1)、X1はAla、Arg、Asp、Hyp、Lys、SerもしくはVal、(Gly-Asp-X2)、X2はAlaもしくはThr、(Gly-Gln-X3)、X3はGlu、HypもしくはSer、(Gly-Pro-X4)、X4はAla、Arg、Hyp、Hyl、Gln、Met、Ile、Lys、Pro、Ser、ThrもしくはVal、(Gly-Ser-X5)、X5はAla、GluもしくはHyp、(Gly-Lys-X6)、X6はAsp、ProもしくはSer、(Gly-Leu-Hyp)、または(Gly-Val-X7)、X7はHypもしくはArgの一般式で示されるトリペプチドの1種または2種以上の混合物を有効成分とすることを特徴とする骨芽細胞のコラーゲン合成促進剤。

【請求項9】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)および(Gly-Pro-Ser)の一般式で示されるトリペプチドの混合物を有効成分とすることを特徴とする骨芽細胞のコラーゲン合成促進剤。

【請求項10】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-X1)、X

1はAla、Arg、Asp、Hyp、Lys、SerもしくはVal、(Gly-Asp-X2)、X2はAlaもしくはThr、(Gly-Gln-X3)、X3はGlu、HypもしくはSer、(Gly-Pro-X4)、X4はAla、Arg、Hyp、Hyl、Gln、Met、Ile、Lys、Pro、Ser、ThrもしくはVal、(Gly-Ser-X5)、X5はAla、GluもしくはHyp、(Gly-Lys-X6)、X6はAsp、ProもしくはSer、(Gly-Leu-Hyp)、または(Gly-Val-X7)、X7はHypもしくはArgの一般式で示されるトリペプチドの1種または2種以上の混合物を有効成分とすることを特徴とする骨の強化または密度向上剤。

【請求項11】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)および(Gly-Pro-Ser)の一般式で示されるトリペプチドの混合物を有効成分とすることを特徴とする骨の強化または密度向上剤。

【請求項12】カルシウムおよびビタミンDのいずれか一方または両方を含むことを特徴とする請求項10または11記載の骨の強化または密度向上剤。

【請求項13】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-X1)、X1はAla、Arg、Asp、Hyp、Lys、SerもしくはVal、(Gly-Asp-X2)、X2はAlaもしくはThr、(Gly-Gln-X3)、X3はGlu、HypもしくはSer、(Gly-Pro-X4)、X4はAla、Arg、Hyp、Hyl、Gln、Met、Ile、Lys、Pro、Ser、ThrもしくはVal、(Gly-Ser-X5)、X5はAla、GluもしくはHyp、(Gly-Lys-X6)、X6はAsp、ProもしくはSer、(Gly-Leu-Hyp)、または(Gly-Val-X7)、X7はHypもしくはArgの一般式で示されるトリペプチドの1種または2種以上の混合物を有効成分とすることを特徴とする皮膚賦活剤。

【請求項14】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)および(Gly-Pro-Ser)の一般式で示されるトリペプチドの混合物を有効成分とすることを特徴とする皮膚賦活剤。

【請求項15】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-X1)、X1はAla、Arg、Asp、Hyp、Lys、SerもしくはVal、(Gly-Asp-X2)、X2はAlaもしくはThr、(Gly-Gln-X3)、X3はGlu、HypもしくはSer、(Gly-Pro-X4)、X4はAla、Arg、Hyp、Hyl、Gln、Met、Ile、Lys、Pro、Ser、ThrもしくはVal、(Gly-Ser-X5)、X5はAla、GluもしくはHyp、(Gly-Lys-X6)、X6はAsp、ProもしくはSer、(Gly-Leu-Hyp)、または(Gly-Val-X7)、X7はHypもしくはArgの一般式で示されるトリペプチドの1種または2種以上の混合物を有効成分とすることを特徴とする保湿剤。

【請求項16】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-Arg)、

(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)および(Gly-Pro-Ser)の一般式で示されるトリペプチドの混合物を有効成分とすることを特徴とする保湿剤。

【請求項17】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-X1)、X1はAla、Arg、Asp、Hyp、Lys、SerもしくはVal、(Gly-Asp-X2)、X2はAlaもしくはThr、(Gly-Gln-X3)、X3はGlu、HypもしくはSer、(Gly-Pro-X4)、X4はAla、Arg、Hyp、Hyl、Gln、Met、Ile、Lys、Pro、Ser、ThrもしくはVal、(Gly-Ser-X5)、X5はAla、GluもしくはHyp、(Gly-Lys-X6)、X6はAsp、ProもしくはSer、(Gly-Leu-Hyp)、または(Gly-Val-X7)、X7はHypもしくはArgの一般式で示されるトリペプチドの1種または2種以上の混合物を有効成分とすることを特徴とする痒み抑制剤。

【請求項18】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)および(Gly-Pro-Ser)の一般式で示されるトリペプチドの混合物を有効成分とすることを特徴とする痒み抑制剤。

【請求項19】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-X1)、X1はAla、Arg、Asp、Hyp、Lys、SerもしくはVal、(Gly-Asp-X2)、X2はAlaもしくはThr、(Gly-Gln-X3)、X3はGlu、HypもしくはSer、(Gly-Pro-X4)、X4はAla、Arg、Hyp、Hyl、Gln、Met、Ile、Lys、Pro、Ser、ThrもしくはVal、(Gly-Ser-X5)、X5はAla、GluもしくはHyp、(Gly-Lys-X6)、X6はAsp、ProもしくはSer、(Gly-Leu-Hyp)、または(Gly-Val-X7)、X7はHypもしくはArgの一般式で示されるトリペプチドの1種または2種以上の混合物を有効成分とすることを特徴とする創傷治癒剤。

【請求項20】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)および(Gly-Pro-Ser)の一般式で示されるトリペプチドの混合物を有効成分とすることを特徴とする創傷治癒剤。

【請求項21】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-X1)、X1はAla、Arg、Asp、Hyp、Lys、SerもしくはVal、(Gly-Asp-X2)、X2はAlaもしくはThr、(Gly-Gln-X3)、X3はGlu、HypもしくはSer、(Gly-Pro-X4)、X4はAla、Arg、Hyp、Hyl、Gln、Met、Ile、Lys、Pro、Ser、ThrもしくはVal、(Gly-Ser-X5)、X5はAla、GluもしくはHyp、(Gly-Lys-X6)、X6はAsp、ProもしくはSer、(Gly-Leu-Hyp)、または(Gly-Val-X7)、X7はHypもしくはArgの一般式で示されるトリペプチドの1種または2種以上の混合物を有効成分とすることを特徴とする抗老化またはシワ抑制剤。

【請求項22】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)および(Gly-Pro-Ser)の一般式で示されるトリペプチドの混合物を有効成分とすることを特徴とする抗老化またはシワ抑制剤。

【請求項23】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-X1)、X1はAla、Arg、Asp、Hyp、Lys、SerもしくはVal、(Gly-Asp-X2)、X2はAlaもしくはThr、(Gly-Gln-X3)、X3はGlu、HypもしくはSer、(Gly-Pro-X4)、X4はAla、Arg、Hyp、Hyl、Gln、Met、Ile、Lys、Pro、Ser、ThrもしくはVal、(Gly-Ser-X5)、X5はAla、GluもしくはHyp、(Gly-Lys-X6)、X6はAsp、ProもしくはSer、(Gly-Leu-Hyp)、または(Gly-Val-X7)、X7はHypもしくはArgの一般式で示されるトリペプチドの1種または2種以上の混合物を有効成分とすることを特徴とする荒れ肌の抑制または改善剤。

【請求項24】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)および(Gly-Pro-Ser)の一般式で示されるトリペプチドの混合物を有効成分とすることを特徴とする荒れ肌の抑制または改善剤。

【請求項25】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-X1)、X1はAla、Arg、Asp、Hyp、Lys、SerもしくはVal、(Gly-Asp-X2)、X2はAlaもしくはThr、(Gly-Gln-X3)、X3はGlu、HypもしくはSer、(Gly-Pro-X4)、X4はAla、Arg、Hyp、Hyl、Gln、Met、Ile、Lys、Pro、Ser、ThrもしくはVal、(Gly-Ser-X5)、X5はAla、GluもしくはHyp、(Gly-Lys-X6)、X6はAsp、ProもしくはSer、(Gly-Leu-Hyp)、または(Gly-Val-X7)、X7はHypもしくはArgの一般式で示されるトリペプチドの1種または2種以上の混合物を有効成分とすることを特徴とする皮膚または骨の加齢による機能低下の予防または改善剤。

【請求項26】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)および(Gly-Pro-Ser)の一般式で示されるトリペプチドの混合物を有効成分とすることを特徴とする皮膚または骨の加齢による機能低下の予防または改善剤。

【請求項27】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-X1)、X1はAla、Arg、Asp、Hyp、Lys、SerもしくはVal、(Gly-Asp-X2)、X2はAlaもしくはThr、(Gly-Gln-X3)、X3はGlu、HypもしくはSer、(Gly-Pro-X4)、X4はAla、Arg、Hyp、Hyl、Gln、Met、Ile、Lys、Pro、Ser、ThrもしくはVal、(Gly-Ser-X5)、X5はAla、GluもしくはHyp、(Gly-Lys-X6)、X6はAsp、ProもしくはSer、(Gly-Leu

-Hyp)、または(Gly-Val- X7)、X7はHypもしくはArgの一般式で示されるトリペプチドの1種または2種以上の混合物を有効成分とすることを特徴とする骨折治療剤。

【請求項28】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)および(Gly-Pro-Ser)の一般式で示されるトリペプチドの混合物を有効成分とすることを特徴とする骨折治療剤。

【請求項29】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-X1)、X1はAla、Arg、Asp、Hyp、Lys、SerもしくはVal、(Gly-Asp-X2)、X2はAlaもしくはThr、(Gly-Gln-X3)、X3はGlu、HypもしくはSer、(Gly-Pro-X4)、X4はAla、Arg、Hyp、Hyl、Gln、Met、Ile、Lys、Pro、Ser、ThrもしくはVal、(Gly-Ser-X5)、X5はAla、GluもしくはHyp、(Gly-Lys-X6)、X6はAsp、ProもしくはSer、(Gly-Leu-Hyp)、または(Gly-Val- X7)、X7はHypもしくはArgの一般式で示されるトリペプチドの1種または2種以上の混合物を有効成分とすることを特徴とする生体組織の新陳代謝促進剤。

【請求項30】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)および(Gly-Pro-Ser)の一般式で示されるトリペプチドの混合物を有効成分とすることを特徴とする生体組織の新陳代謝促進剤。

【請求項31】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-X1)、X1はAla、Arg、Asp、Hyp、Lys、SerもしくはVal、(Gly-Asp-X2)、X2はAlaもしくはThr、(Gly-Gln-X3)、X3はGlu、HypもしくはSer、(Gly-Pro-X4)、X4はAla、Arg、Hyp、Hyl、Gln、Met、Ile、Lys、Pro、Ser、ThrもしくはVal、(Gly-Ser-X5)、X5はAla、GluもしくはHyp、(Gly-Lys-X6)、X6はAsp、ProもしくはSer、(Gly-Leu-Hyp)、または(Gly-Val- X7)、X7はHypもしくはArgの一般式で示されるトリペプチドの1種または2種以上の混合物を有効成分とすることを特徴とする慢性関節リウマチまたは変形関節症の予防、治療または改善剤。

【請求項32】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)および(Gly-Pro-Ser)の一般式で示されるトリペプチドの混合物を有効成分とすることを特徴とする慢性関節リウマチまたは変形関節症の予防、治療または改善剤。

【請求項33】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-X1)、X1はAla、Arg、Asp、Hyp、Lys、SerもしくはVal、(Gly-Asp-X2)、X2はAlaもしくはThr、(Gly-Gln-X3)、X3はGlu、HypもしくはSer、(Gly-P

ro-X4)、X4はAla、Arg、Hyp、Hyl、Gln、Met、Ile、Lys、Pro、Ser、ThrもしくはVal、(Gly-Ser-X5)、X5はAla、GluもしくはHyp、(Gly-Lys-X6)、X6はAsp、ProもしくはSer、(Gly-Leu-Hyp)、または(Gly-Val- X7)、X7はHypもしくはArgの一般式で示されるトリペプチドの1種または2種以上の混合物を有効成分とすることを特徴とするアトピー性皮膚炎またはアレルギー疾患の治療剤。

【請求項34】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)および(Gly-Pro-Ser)の一般式で示されるトリペプチドの混合物を有効成分とすることを特徴とするアトピー性皮膚炎またはアレルギー疾患の治療剤。

【請求項35】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-X1)、X1はAla、Arg、Asp、Hyp、Lys、SerもしくはVal、(Gly-Asp-X2)、X2はAlaもしくはThr、(Gly-Gln-X3)、X3はGlu、HypもしくはSer、(Gly-Pro-X4)、X4はAla、Arg、Hyp、Hyl、Gln、Met、Ile、Lys、Pro、Ser、ThrもしくはVal、(Gly-Ser-X5)、X5はAla、GluもしくはHyp、(Gly-Lys-X6)、X6はAsp、ProもしくはSer、(Gly-Leu-Hyp)、または(Gly-Val- X7)、X7はHypもしくはArgの一般式で示されるトリペプチドの1種または2種以上の混合物を有効成分とすることを特徴とする老人性乾皮症治療剤。

【請求項36】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)および(Gly-Pro-Ser)の一般式で示されるトリペプチドの混合物を有効成分とすることを特徴とする老人性乾皮症治療剤。

【請求項37】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-X1)、X1はAla、Arg、Asp、Hyp、Lys、SerもしくはVal、(Gly-Asp-X2)、X2はAlaもしくはThr、(Gly-Gln-X3)、X3はGlu、HypもしくはSer、(Gly-Pro-X4)、X4はAla、Arg、Hyp、Hyl、Gln、Met、Ile、Lys、Pro、Ser、ThrもしくはVal、(Gly-Ser-X5)、X5はAla、GluもしくはHyp、(Gly-Lys-X6)、X6はAsp、ProもしくはSer、(Gly-Leu-Hyp)、または(Gly-Val- X7)、X7はHypもしくはArgの一般式で示されるトリペプチドの1種または2種以上の混合物を有効成分とすることを特徴とする骨粗鬆症の予防、治療または改善剤。

【請求項38】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)および(Gly-Pro-Ser)の一般式で示されるトリペプチドの混合物を有効成分とすることを特徴とする骨粗鬆症の予防、治療または改善剤。

【請求項39】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-X1)、X

1はAla、Arg、Asp、Hyp、Lys、SerもしくはVal、(Gly-Asp-X2)、X2はAlaもしくはThr、(Gly-Gln-X3)、X3はGlu、HypもしくはSer、(Gly-Pro-X4)、X4はAla、Arg、Hyp、Hyl、Gln、Met、Ile、Lys、Pro、Ser、ThrもしくはVal、(Gly-Ser-X5)、X5はAla、GluもしくはHyp、(Gly-Lys-X6)、X6はAsp、ProもしくはSer、(Gly-Leu-Hyp)、または(Gly-Val-X7)、X7はHypもしくはArgの一般式で示されるトリペプチドの1種または2種以上の混合物を有効成分とすることを特徴とする皮膚疾患の予防または改善外用剤。

【請求項40】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)および(Gly-Pro-Ser)の一般式で示されるトリペプチドの混合物を有効成分とすることを特徴とする皮膚疾患の予防または改善外用剤。

【請求項41】コラーゲン成分またはゼラチン成分をコラゲナーゼ酵素を用いて分解して得られる、アミノ酸配列がGly-X-Yのトリペプチド(但し、XおよびYはGly以外の任意のアミノ酸残基)を有効成分とする皮膚疾患の予防または改善外用剤。

【請求項42】グリチルリチン酸エステルまたはその誘導体を含むことを特徴とする請求項39、40または41記載の皮膚疾患の予防または改善外用剤。

【請求項43】ヒアルロン酸を含むことを特徴とする請求項39、40、41または42記載の皮膚疾患の予防または改善外用剤。

【請求項44】アスコルビン酸またはその誘導体を含むことを特徴とする請求項39、40、41、42または43記載の皮膚疾患の予防または改善外用剤。

【請求項45】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-X1)、X1はAla、Arg、Asp、Hyp、Lys、SerもしくはVal、(Gly-Asp-X2)、X2はAlaもしくはThr、(Gly-Gln-X3)、X3はGlu、HypもしくはSer、(Gly-Pro-X4)、X4はAla、Arg、Hyp、Hyl、Gln、Met、Ile、Lys、Pro、Ser、ThrもしくはVal、(Gly-Ser-X5)、X5はAla、GluもしくはHyp、(Gly-Lys-X6)、X6はAsp、ProもしくはSer、(Gly-Leu-Hyp)、または(Gly-Val-X7)、X7はHypもしくはArgの一般式で示されるトリペプチドの1種または2種以上の混合物を有効成分とすることを特徴とする人工透析による皮膚掻痒感の改善外用剤。

【請求項46】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)および(Gly-Pro-Ser)の一般式で示されるトリペプチドの混合物を有効成分とすることを特徴とする人工透析による皮膚掻痒感の改善外用剤。

【請求項47】グリチルリチン酸エステルまたはその誘

導体を含むことを特徴とする請求項45または46記載の人工透析による皮膚掻痒感の改善外用剤。

【請求項48】ヒアルロン酸を含むことを特徴とする請求項45、46または47記載の人工透析による皮膚掻痒感の改善外用剤。

【請求項49】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-X1)、X1はAla、Arg、Asp、Hyp、Lys、SerもしくはVal、(Gly-Asp-X2)、X2はAlaもしくはThr、(Gly-Gln-X3)、X3はGlu、HypもしくはSer、(Gly-Pro-X4)、X4はAla、Arg、Hyp、Hyl、Gln、Met、Ile、Lys、Pro、Ser、ThrもしくはVal、(Gly-Ser-X5)、X5はAla、GluもしくはHyp、(Gly-Lys-X6)、X6はAsp、ProもしくはSer、(Gly-Leu-Hyp)、または(Gly-Val-X7)、X7はHypもしくはArgの一般式で示されるトリペプチドの1種または2種以上の混合物を有効成分とすることを特徴とするアトピー性皮膚炎による皮膚掻痒感の改善外用剤。

【請求項50】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)および(Gly-Pro-Ser)の一般式で示されるトリペプチドの混合物を有効成分とすることを特徴とするアトピー性皮膚炎による皮膚掻痒感の改善外用剤。

【請求項51】グリチルリチン酸エステルまたはその誘導体を含むことを特徴とする請求項49または50記載のアトピー性皮膚炎による皮膚掻痒感の改善外用剤。

【請求項52】ヒアルロン酸を含むことを特徴とする請求項49、50または51記載のアトピー性皮膚炎による皮膚掻痒感の改善外用剤。

【請求項53】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-X1)、X1はAla、Arg、Asp、Hyp、Lys、SerもしくはVal、(Gly-Asp-X2)、X2はAlaもしくはThr、(Gly-Gln-X3)、X3はGlu、HypもしくはSer、(Gly-Pro-X4)、X4はAla、Arg、Hyp、Hyl、Gln、Met、Ile、Lys、Pro、Ser、ThrもしくはVal、(Gly-Ser-X5)、X5はAla、GluもしくはHyp、(Gly-Lys-X6)、X6はAsp、ProもしくはSer、(Gly-Leu-Hyp)、または(Gly-Val-X7)、X7はHypもしくはArgの一般式で示されるトリペプチドの1種または2種以上の混合物を有効成分とすることを特徴とする皮膚のテープかぶれの予防または改善外用剤。

【請求項54】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)および(Gly-Pro-Ser)の一般式で示されるトリペプチドの混合物を有効成分とすることを特徴とする皮膚のテープかぶれの予防または改善外用剤。

【請求項55】ヒアルロン酸を含むことを特徴とする請求項53または54記載の皮膚のテープかぶれの予防または改善外用剤。

【請求項56】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-X1)、X1はAla、Arg、Asp、Hyp、Lys、SerもしくはVal、(Gly-Asp-X2)、X2はAlaもしくはThr、(Gly-Gln-X3)、X3はGlu、HypもしくはSer、(Gly-Pro-X4)、X4はAla、Arg、Hyp、Hyl、Gln、Met、Ile、Lys、Pro、Ser、ThrもしくはVal、(Gly-Ser-X5)、X5はAla、GluもしくはHyp、(Gly-Lys-X6)、X6はAsp、ProもしくはSer、(Gly-Leu-Hyp)、または(Gly-Val-X7)、X7はHypもしくはArgの一般式で示されるトリペプチドの1種または2種以上の混合物を有効成分とすることを特徴とする糖尿病による皮膚のひび割れの改善外用剤。

【請求項57】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)および(Gly-Pro-Ser)の一般式で示されるトリペプチドの混合物を有効成分とすることを特徴とする糖尿病による皮膚のひび割れの改善外用剤。

【請求項58】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-X1)、X1はAla、Arg、Asp、Hyp、Lys、SerもしくはVal、(Gly-Asp-X2)、X2はAlaもしくはThr、(Gly-Gln-X3)、X3はGlu、HypもしくはSer、(Gly-Pro-X4)、X4はAla、Arg、Hyp、Hyl、Gln、Met、Ile、Lys、Pro、Ser、ThrもしくはVal、(Gly-Ser-X5)、X5はAla、GluもしくはHyp、(Gly-Lys-X6)、X6はAsp、ProもしくはSer、(Gly-Leu-Hyp)、または(Gly-Val-X7)、X7はHypもしくはArgの一般式で示されるトリペプチドの1種または2種以上の混合物を有効成分とすることを特徴とする培養皮膚または人工皮膚調製促進剤。

【請求項59】アミノ酸配列が、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)および(Gly-Pro-Ser)の一般式で示されるトリペプチドの混合物を有効成分とすることを特徴とする培養皮膚または人工皮膚調製促進剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、コラーゲン産生促進剤、それを含む化粧品、食品および医薬品、骨芽細胞のコラーゲン合成促進剤、骨の強化または密度向上剤、皮膚賦活剤、保湿剤、痒み抑制剤、創傷治療剤、抗老化またはシワ抑制剤、荒れ肌の抑制または改善剤、皮膚または骨の加齢による機能低下の予防または改善剤、骨折治療剤、生体組織の新陳代謝促進剤、慢性関節リウマチまたは変形関節症の予防、治療または改善剤、アトピー性皮膚炎またはアレルギー疾患の治療剤、老人性乾皮症治療剤、骨粗鬆症の予防、治療または改善剤、皮膚疾患の予防または改善外用剤、人工透析による皮膚掻痒感の改善外用剤、アトピー性皮膚炎による皮膚掻痒感の

改善外用剤、皮膚のテープかぶれの予防または改善外用剤、糖尿病による皮膚のひび割れの改善外用剤、ならびに培養皮膚または人工皮膚の生成用調製剤に関する。

【0002】

【従来の技術】従来から、コラーゲンの分解物あるいはコラーゲンを加熱変性させたゼラチンの加水分解物は、化粧品および食品向けの原材料、さらに医薬品向けの生体機能性材料として幅広く利用されてきた。

【0003】近年、コラーゲン蛋白質およびその分解物の経口摂取の薬理効果について多くの研究がなされるようになった。これまでに、コラーゲンの主な効果として、骨粗鬆症の予防・改善に結びつく骨芽細胞増殖促進作用、骨強化作用(特開平9-255588号公報、特開平11-12192号公報参照)、加齢に伴う生体組織の機能の低下を改善させる、生体組織の新陳代謝促進作用(特開平7-278012号公報、特開平9-67262号公報参照)、皮膚代謝促進作用、皮膚賦活作用(特開平9-67262号公報、特開2000-201649号公報参照)など、数多くの効果が明らかとなっている。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、これらの効果を十分に発揮させるためには、コラーゲンやゼラチンまたはそれらの分解物を多量摂取する必要がある。特に、消化機能の低下した高齢者などの場合、コラーゲンやゼラチンはもともと消化吸収されやすいタンパク質であるとされているにもかかわらず、多量に摂取しても、満足できるレベルの効果が得られにくいといった問題点があった。

【0005】さらに、コラーゲンやゼラチンあるいはそれらの分解物を摂取した場合、実際に、どのような分子量の、そしてどのようなアミノ酸配列を保有するペプチドが有効成分として働いているのか不明であった。例えば、特開平9-255588号公報には、「コラーゲン及び/又はその分解物を配合することを特徴とする骨強化作用を賦与した医薬、食品または飼料」が記載され、骨粗鬆症の予防・改善あるいは骨強化作用を特徴とするものが記載されている。また、特開平11-12192号公報でも、「コラーゲンまたはゼラチンの酵素分解物を有効成分とする骨粗鬆症予防・治療剤」が記載されている。しかしながら、これらの従来技術では、骨強化作用または骨粗鬆症の予防に効果のある物質が、原料であるコラーゲンあるいはゼラチンそれ自体か、あるいはその分解物全体で表され、その有効成分がどのような分子量で、どのようなアミノ酸配列を保有しているかなどの特定がなされていなかった。

【0006】特開平7-278012号公報においても、「コラーゲン蛋白、もしくはその加水分解物を必須成分とした新陳代謝促進剤」が記載され、生体組織の新陳代謝促進作用を特徴とするものが記載されている。しかしなが

ら、この従来技術でも同様に、新陳代謝促進に効果のある物質が、原料であるコラーゲン自体か、もしくはその（加水）分解物全体で表され、その有効成分がどのような分子量で、どのようなアミノ酸配列を保有しているかなど、物質としての特定がなされていない。

【0007】さらに、特開平9-67262号公報および特開2000-201649号公報においても、それぞれ「杜仲もしくはその抽出物等と、コンドロイチン硫酸、コラーゲン若しくはその加水分解物等の一種又は二種以上を選択して配合した皮膚賦活剤」および「家禽類の皮、骨及び／又は腱から調製された等電点7～10の食用ゼラチン及び／又はその加水分解物を含有する皮膚代謝促進物」が記載され、皮膚代謝促進作用あるいは皮膚賦活作用を有するものが記載されている。しかしながら、これらの従来技術においても同様に、皮膚代謝促進に効果のある物質が、原料であるコラーゲン／ゼラチンか、もしくはその加水分解物全体をもって表され、それらの加水分解物中に含まれる有効成分がどのような分子量で、どのようなアミノ酸配列を保有しているかなどが特定されていない。

【0008】このような状況の下、本発明者は、コラーゲンまたはゼラチンをコラゲナーゼ酵素を用いて特異的に分解して得られるペプチド組成物であって、アミノ酸配列が{Gly-X-Y}のコラーゲントリペプチドは、従来のコラーゲン、ゼラチンおよびそれらの加水分解物、さらには遊離のアミノ酸以上に速やかに、かつ効率よく消化吸収されることを見出した。

【0009】そして、このコラーゲントリペプチドは効率よく、速やかに消化吸収された後、生体中のコラーゲン関与の各結合組織・臓器に取り込まれると同時に、末梢および関連組織中におけるコラーゲン産生を促進させることで、皮膚、骨組織および各結合組織の機能性の向上に大きく寄与していることが判明した。

【0010】このコラーゲントリペプチドを含む機能性食品、医薬品の摂取および投与は、各結合組織における骨芽細胞または線維芽細胞のコラーゲン産生を高め、それらの増殖を促進し、骨の強化または密度向上、生体組織の新陳代謝促進、皮膚の賦活、皮膚または骨の加齢による機能低下の予防または改善、骨粗鬆症の予防または改善、慢性関節リウマチまたは変形関節症の改善および骨折治癒または創傷治癒の促進に寄与することが期待されている。

【0011】しかしながら、見い出されたコラーゲントリペプチドはN末端アミノ酸がグリシンとなるアミノ酸3個のトリペプチドであるということまでは判明していたが、具体的にどのような分子量であるか、また、どのようなアミノ酸配列を有するペプチドであるのか全く不明であった。残念ながら、従来は、集合体として判明していた、{Gly-X-Y}のアミノ酸配列を有するコラーゲントリペプチドの{X}および{Y}に関するデ

ータが無かったため、具体的な有効成分の特定が不可能であった。

【0012】これら{X}および{Y}に該当するアミノ酸は、理論上、各々23種類も存在しており、どれが該当するかは明らかでなかった。これら{X}および{Y}の各々のアミノ酸に23種類のアミノ酸を組み合わせた場合、実に“529種類”ものコラーゲントリペプチドが想定されることになり、有効成分の特定はほど遠い状況であった。

10 【0013】ところで、A. 皮膚掻痒症、B. テープかぶれ及びC. 糖尿病足病変部位のひび割れに関しては、各疾患の患者のQOLを著しく悪化させるような深刻な問題が発生しているが、いずれにおいても根本的な解決に至らず、治療および臨床の現場を困らせている状態が続いている。これら各疾患領域における従来の状況を、次に列記する。

【0014】A. 皮膚掻痒感
透析患者の皮膚掻痒症の原因にはさまざまな要因が関与していると考えられており、その詳細は明らかになっていない。しかし、透析患者の皮膚は角質層の水分量が少なく、発汗機能、皮脂分泌機能が低下し、乾皮症を呈しており、これが痒みを増強していると考えられている。さらに、この痒みに伴って掻くこと自体が皮膚の状態を悪化させ、さらに皮膚掻痒感を助長している。

20 【0015】一方、アトピー性皮膚炎においてはダニ、ハウスダストあるいは食物アレルギーなど各種のアレルゲンが原因（引き金）となって炎症を惹起させて痒みを誘発させていると言われているが、「この痒みによってもたらされる“掻く”という行動が角質層および表皮にダメージを与えることで、皮膚が本来もっている外界との遮断能力を奪ってしまい、新たなアレルゲンあるいは細菌などの侵入をしやすくし、ついにはアトピー性皮膚炎そのものを悪化させ、その痒みを助長させている。」という悪循環が指摘されている。

【0016】B. テープかぶれ
入院あるいは通院を問わず、各種疾患・疾病の治療時において注射針、チューブなどを皮膚に固定させる際にいろいろなタイプのテープ剤が多用されているが、その皮膚に貼付したテープによる“テープかぶれ”を生じたり、“痒みや痛み”が誘発されることが多く、治療を受けている患者の苦痛となっていた。テープかぶれの原因は、主にテープをとる際にその粘着部分に皮膚の角質層が3～5層程度付着して角質層を剥がしてしまい、これを何度か行うことで皮膚が外界からの刺激や異物侵入に敏感となって、掻痒感あるいは痛みが引き起こされるためと考えられている。やはり、透析などの皮膚掻痒感の場合と関連した皮膚のスキンケアに対する障害が原因の一端となっている。

50 【0017】現在、これを少しでも解消するために、粘着力を弱めて一度の使用で剥がれる角質層を少なくした

り、粘着面積を少なくしたりする工夫を凝らし、かぶれ
難しいことを標榜するテープ剤が開発され、実際に臨床の
場において活用されている。これにより、“テープかぶ
れ”などの頻度は確かに少なくなってきたはいるが、根
本的な解決には至って折らず、治療を受けている患者の
苦痛は解消されたとは言い難い状況にある。

【0018】C. 糖尿病患者の足病変部位のひび割れの
改善

糖尿病には合併症が伴うことはよく知られているが、な
かでも「足のトラブル」(糖尿病足病変)は患者のQOL
を低下させることから深刻な問題となっており、これ
に対応したケア製品は殆ど無い状態であった。

【0019】本発明は、このような課題を解決するため
になされたもので、構造が特定されたトリペプチドから
成り、少量の摂取でも効率よく、速やかに消化吸収され
るコラーゲン産生促進剤、それを含む化粧品、食品およ
び医薬品、骨芽細胞のコラーゲン合成促進剤、骨の強化
または密度向上剤、皮膚賦活剤、保湿剤、痒み抑制剤、
創傷治癒剤、抗老化またはシワ抑制剤、荒れ肌の抑制ま
たは改善剤、皮膚または骨の加齢による機能低下の予防
または改善剤、骨折治癒剤、生体組織の新陳代謝促進
剤、慢性関節リウマチまたは変形関節症の予防、治療
または改善剤、アトピー性皮膚炎またはアレルギー疾患
の治療剤、老人性乾皮症治療剤、骨粗鬆症の予防、治療
または改善剤、皮膚疾患の予防または改善外用剤、人工
透析による皮膚掻痒感の改善外用剤、アトピー性皮膚
炎による皮膚掻痒感の改善外用剤、皮膚のテープかぶ
れの予防または改善外用剤、糖尿病による皮膚のひび
割れの改善外用剤、ならびに培養皮膚または人工皮膚
の生成用調製促進剤を提供することを目的としている。

【0020】

【課題を解決するための手段】前述の機能性に対応する
有効成分であるコラーゲントリペプチドが、529種類
のトリペプチドのいずれであるかを明らかにすること
は、コラーゲントリペプチド自体の有用性を確立する上
で大変重要である。本発明者は、この課題の解決に向け
て、コラーゲントリペプチド中に有効成分として含まれ
ているトリペプチドのアミノ酸配列を様々な手法を用い
て解析した結果、33種類のトリペプチドが有効成分と
して存在していることを発見し、その33種類のトリペ
プチドを同定することに成功した。さらに、これらのトリ
ペプチドを処方あるいは配合した化粧品、食品または
医薬品は、多くの機能性を有していることを見出した。

【0021】また、これらのコラーゲンペプチドあるい
はトリペプチドを配合した皮膚外用剤(皮膚疾患の予防
または改善外用剤)に関する機能性および有用性を鋭
意検討した結果、A. テープかぶれの疾患領域、B. 皮
膚掻痒感を訴える疾患領域およびC. 糖尿病などの足病
変部位のひび割れに関する疾患領域の3種類の疾患領域
において著しい効果を発揮することを見出した。こうし

て、本発明を完成するに至った。

【0022】すなわち、本発明に係るコラーゲン産生促
進剤、骨芽細胞のコラーゲン合成促進剤、骨の強化もし
くは密度向上剤、皮膚賦活剤、保湿剤、痒み抑制剤、創
傷治癒剤、抗老化もしくはシワ抑制剤、荒れ肌の抑制も
しくは改善剤、皮膚もしくは骨の加齢による機能低下の
予防もしくは改善剤、骨折治癒剤、生体組織の新陳代謝
促進剤、慢性関節リウマチもしくは変形関節症の予防、
治療もしくは改善剤、アトピー性皮膚炎もしくはアレ
ルギー疾患の治療剤、老人性乾皮症治療剤、骨粗鬆症の予
防、治療もしくは改善剤、皮膚疾患の予防または改善用
外用剤、人工透析による皮膚掻痒感の改善外用剤、ア
トピー性皮膚炎による皮膚掻痒感の改善外用剤、皮膚
のテープかぶれの予防または改善外用剤または糖尿病
による皮膚のひび割れの改善外用剤、ならびに培養皮
膚または人工皮膚の調製促進剤(以下、総称して「機能
剤」という)は、アミノ酸配列が、(Gly-Ala-X1)、
X1はAla、Arg、Asp、Hyp、Lys、SerもしくはVal
1、(Gly-Asp-X2)、X2はAlaもしくはThr、(Gly
-Gln-X3)、X3はGlu、HypもしくはSer、(Gly-
Pro-X4)、X4はAla、Arg、Hyp、Hyl、Gln、Me
t、Ile、Lys、Pro、Ser、ThrもしくはVal、(Gly
-Ser-X5)、X5はAla、GluもしくはHyp、(Gly-
Lys-X6)、X6はAsp、ProもしくはSer、(Gly-Le
u-Hyp)、または(Gly-Val-X7)、X7はHypもしくは
Argの一般式で示されるトリペプチドの1種または2
種以上の混合物を有効成分とすることを特徴とする。

【0023】そのトリペプチドを個々に示せば、以下の
33種類のトリペプチドである。(Gly-Ala-Ala)、
(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Asp)、(Gly-Ala-Hyp
)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Ala-Ser)、(Gly-Ala
-Val)、(Gly-Asp-Ala)、(Gly-Asp-Thr)、(Gly-
Gln-Glu)、(Gly-Gln-Hyp)、(Gly-Gln-Ser)、(Gly-P
ro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)、(G
ly-Pro-Hyl)、(Gly-Pro-Gln)、(Gly-Pro-Met)、
(Gly-Pro-Ile)、(Gly-Pro-Lys)、(Gly-Pro-Pro
)、(Gly-Pro-Ser)、(Gly-Pro-Thr)、(Gly-Pro
-Val)、(Gly-Ser-Ala)、(Gly-Ser-Glu)、(Gly
-Ser-Hyp)、(Gly-Lys-Asp)、(Gly-Lys-Pro)、
(Gly-Lys-Ser)、(Gly-Leu-Hyp)、(Gly-Val-Hyp
)、(Gly-Val-Arg)。

【0024】本発明に係るコラーゲン産生促進剤などの
機能剤は、アミノ酸配列が、以下の29種類のトリペプ
チドの1種または2種以上の混合物を有効成分とするも
のであってもよい。(Gly-Ala-Ala)、(Gly-Ala-Arg
)、(Gly-Ala-Asp)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala
-Lys)、(Gly-Ala-Ser)、(Gly-Ala-Val)、(Gly-
Gln-Glu)、(Gly-Gln-Hyp)、(Gly-Gln-Ser)、(Gly-P
ro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)、(G
ly-Pro-Hyl)、(Gly-Pro-Gln)、(Gly-Pro-Met)、

(Gly-Pro-Ile)、(Gly-Pro-Lys)、(Gly-Pro-Pro)、(Gly-Pro-Ser)、(Gly-Pro-Thr)、(Gly-Pro-Val)、(Gly-Ser-Ala)、(Gly-Ser-Glu)、(Gly-Ser-Hyp)、(Gly-Lys-Asp)、(Gly-Lys-Pro)、(Gly-Lys-Ser)、(Gly-Leu-Hyp)。

【0025】また、本発明に係るコラーゲン産生促進剤などの機能剤は、アミノ酸配列が、以下の14種類のトリペプチドの1種または2種以上の混合物を有効成分とするものであってもよい。(Gly-Ala-Ala)、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Ser)、(Gly-Gln-Glu)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Hyp)、(Gly-Pro-Hyl)、(Gly-Pro-Lys)、(Gly-Pro-Pro)、(Gly-Pro-Ser)、(Gly-Lys-Asp)、(Gly-Leu-Hyp)、(Gly-Ser-Hyp)。

【0026】なお、本明細書において、各種アミノ酸残基を次の略号で示す。

Ala : アラニン残基

Arg : アルギニン残基

Asp : アスパラギン酸残基

Gln : グルタミン残基

Glu : グルタミン酸残基

Gly : グリシン残基

Hyl : ヒドロキシリジン残基

Hyp : ヒドロキシプロリン残基

Ile : イソロイシン残基

Leu : ロイシン残基

Lys : リジン残基

Met : メチオニン残基

Pro : プロリン残基

Ser : セリン残基

Thr : トレオニン残基

Val : バリン残基

【0027】また、本明細書においては、常法に従って、ペプチドのアミノ酸配列を、そのN末端のアミノ酸残基が左側に位置し、C末端のアミノ酸残基が右側に位置するように示す。

【0028】前述の33種類のトリペプチドの1種または2種以上の混合物は、コラーゲン産生促進、骨芽細胞または線維芽細胞のコラーゲン合成促進、骨の強化または密度向上、皮膚賦活、肌などの保湿、人工透析患者などの痒み抑制、手術後の創傷治癒、腱の断裂ややけどなどの創傷治癒、抗老化またはシワ抑制、荒れ肌または乾燥肌の抑制または改善、皮膚または骨の加齢による機能低下の予防、改善または治療、骨折治癒、生体組織の新陳代謝促進、慢性関節リウマチまたは変形関節症の予防、治療または改善、アトピー性皮膚炎またはアレルギー疾患の治療、老人性乾皮症治療、骨粗鬆症の予防、治療または改善、皮膚疾患の予防または改善、人工透析による皮膚掻痒感の改善、アトピー性皮膚炎による皮膚掻痒感の改善、皮膚のテーパーかぶれの予防または改善なら

びに糖尿病による皮膚のひび割れの改善、ならびに培養皮膚あるいは人工皮膚の生成促進などの作用または機能性を備えている。本発明は、そのトリペプチドの1種または2種以上の混合物の作用または機能性を見出してなされたものである。前述の33種類のトリペプチドの1種または2種以上の混合物は、摂取または投与によりそれらの作用または機能性を発揮する。

【0029】前述の33種類のトリペプチドの1種または2種以上の混合物は、さらに以下のような特徴を有する。(1)アミノ酸よりも消化吸収性に優れている。

(2)経口摂取することにより、コラーゲン組織である皮膚、骨、軟骨、腱などに効率的に取り込まれ、コラーゲン代謝に有効に働く。(3)皮膚および骨のコラーゲン合成を高める。(4)皮膚へ塗布することにより、皮膚の表面と内部からのダブル保湿効果を発揮する。

【0030】そして、これらの作用あるいは機能性を背景として、前述のトリペプチドが配合(処方)された化粧品、食品あるいは医薬品は、骨折患者または皮膚外傷患者、慢性関節リウマチまたは変形関節症の患者、人工透析者、アトピー性皮膚炎あるいはアレルギー患者、高齢者あるいは老人性乾皮症患者、骨粗鬆症の患者そして糖尿病患者などの疾患の予防、治療あるいは改善に寄与するだけでなく、さらには、皮膚または骨の加齢による機能低下の予防または改善、生体組織の新陳代謝促進あるいは皮膚賦活、創傷治癒の促進、創傷治癒に供する培養皮膚・人工皮膚の調製への寄与、高齢者のスキンケアあるいは手術後の患者の治療に有効である。

【0031】本発明に係るコラーゲン産生促進剤などの機能剤は、特に、アミノ酸配列が、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)および(Gly-Pro-Ser)の一般式で示されるトリペプチドの混合物を有効成分とすることが好ましい。

【0032】本発明に係るコラーゲン産生促進剤などの機能剤は、アミノ酸を用いた合成技術または発酵技術によって得られたものであってもよい。本発明に係る化粧品、食品または医薬品は、本発明に係るコラーゲン産生促進剤などの機能剤または前述の33種類のトリペプチドの1種もしくは2種以上を含むことを特徴とする。本発明に係る化粧品、食品または医薬品は、前述の33種類のトリペプチドの1種または2種以上を0.005重量%以上含むことが好ましい。

【0033】本発明に係る骨の強化または密度向上剤は、さらに、カルシウムおよびビタミンDのいずれか一方または両方を含むことが好ましい。本発明に係る骨の強化または密度向上剤は、カルシウムとビタミンDとを含むことにより、骨の強化または密度向上などの機能性を増す。

【0034】本発明に係る皮膚疾患の予防または改善用外用剤は、コラーゲン成分またはゼラチン成分をコラゲ

ナーゼ酵素を用いて分解して得られる、アミノ酸配列が Gly-X-Y のトリペプチド（但し、X および Y は Gly 以外の任意のアミノ酸残基）を有効成分とするものであってもよい。

【0035】本発明に係るコラーゲン産生促進剤などの機能剤は、アスコルビン酸またはその誘導体を含むことが好ましい。本発明に係るコラーゲン産生促進剤などの機能剤は、アスコルビン酸またはその誘導体を配合することにより、さらに、コラーゲン産生促進作用、骨芽細胞または線維芽細胞の増殖促進、骨強化、骨密度の向上、骨粗鬆症の予防・改善、皮膚賦活、新陳代謝促進、創傷治癒の促進、皮膚疾患の予防・改善、人工透析またはアトピー性皮膚炎による皮膚掻痒感の改善、皮膚のテープかぶれの予防・改善、糖尿病による皮膚のひび割れの改善などの機能性を増す。

【0036】また、本発明に係るコラーゲン産生促進剤などの機能剤は、グリチルリチン酸エステルまたはその誘導体を含むことが好ましい。本発明に係るコラーゲン産生促進剤などの機能剤は、グリチルリチン酸エステルまたはその誘導体を配合することにより、さらに、コラーゲン産生促進作用、骨芽細胞または線維芽細胞の増殖促進、骨強化、骨密度の向上、骨粗鬆症の予防・改善、皮膚賦活、新陳代謝促進、創傷治癒の促進、皮膚疾患の予防・改善、人工透析またはアトピー性皮膚炎による皮膚掻痒感の改善、皮膚のテープかぶれの予防・改善、糖尿病による皮膚のひび割れの改善などの機能性を増す。

【0037】また、本発明に係るコラーゲン産生促進剤などの機能剤は、ヒアルロン酸を含むことが好ましい。本発明に係るコラーゲン産生促進剤などの機能剤は、ヒアルロン酸を配合することにより、さらに、コラーゲン産生促進作用、骨芽細胞または線維芽細胞の増殖促進、骨強化、骨密度の向上、骨粗鬆症の予防・改善、皮膚賦活、新陳代謝促進、創傷治癒の促進、皮膚疾患の予防・改善、人工透析またはアトピー性皮膚炎による皮膚掻痒感の改善、皮膚のテープかぶれの予防・改善、糖尿病による皮膚のひび割れの改善などの機能性を増す。

【0038】本発明に係るコラーゲン産生促進剤などの機能剤は、例えば、コラーゲンまたはゼラチンをコラーゲナーゼ酵素を用いて分解、精製して得られたものである。前述のトリペプチドは、一般に公知の方法、例えば、特開平7-82299号広報に記載されている方法に準じて得られたコラーゲンペプチドから、種々の精製クロマト（クロマトグラフィー）（イオン交換クロマト法、逆相クロマト法、疎水クロマト法など）、溶媒を用いた分配技術あるいは抽出技術などによって分別・精製することで得ることができる。トリペプチドの純度などは、化粧品、食品あるいは医薬品などの実際の用途に応じて調整すればよく、単一成分として利用するほか、2〜5種類あるいはそれ以上の種類の粗精製画分として利用することもできる。

【0039】また、本発明に係るコラーゲン産生促進剤などの機能剤は、アミノ酸を用いた合成技術または発酵技術によって得られたものであってもよい。前述のトリペプチドは、該当するアミノ酸を出発原料として、一般に公知のペプチド合成技術、例えば、液相合成法あるいは固相合成法などを駆使することで得ることもできる。ペプチド合成を終了した画分をクロマト法によって精製しても良い。このようにして得られたトリペプチドを単一成分として使用しても良いし、2種類以上のトリペプチドを混合して使用しても良い。

【0040】前述のトリペプチドの1種または2種以上の混合物は、後述の骨芽細胞または線維芽細胞を培養する際に通常培地へ添加されると、その増殖促進剤として機能するだけでなく、これらの細胞のコラーゲン産生能を促進させる効果を保有していることが判明した。この事実より、前述のトリペプチドの1種または2種以上の混合物を処方した化粧品または医薬品を皮膚へ塗布した場合、角質層、表皮層を経て真皮層へ達し、そこに存在する線維芽細胞のコラーゲン産生をアップさせることで皮膚の弾力性の亢進などに寄与する。併せて、前述のトリペプチドの1種または2種以上の混合物を配合、処方した食品あるいは医薬品を経口摂取した場合、同様にコラーゲン産生を促進させ、皮膚の新陳代謝および弾力性の亢進、骨組織の強化ならびに骨密度の向上などに寄与する。

【0041】前述のトリペプチドは、従来のコラーゲンペプチドと同等以上に保水作用に優れている。事実、これを配合した化粧品あるいは医薬品などを2〜3日間ないしは1週間程度連続して皮膚へ塗布した後、被験者の角質層水分量の変化を調査した結果、角質層の保湿効果が高まっていることが確認された。このように、前述のトリペプチドは、皮膚賦活剤、皮膚の保湿性を高める効果がある。

【0042】さらに驚くべき事に、前述のトリペプチドを処方した化粧品あるいは医薬品をアトピー性皮膚炎の患部あるいは人工透析者の患部に塗布した場合、そのスキンケア効果は非常に高く、併せて、両群のポピュレーションで頻発する掻痒感の軽減・解消につながることが判明した。前述のトリペプチドは従来のコラーゲンペプチドと同等以上の保湿作用を有していることに加え、トリペプチドが有効成分となって傷んだ皮膚の回復などに相乗的に有効に作用していると考えられる。

【0043】さらに、予備的な検討結果によると、前述のトリペプチドおよびその組み合わせによって前述の掻痒感の軽減・解消の程度に若干の違いが認められることから、痒みの軽減・解消に、より有効に作用を発揮するトリペプチドの存在が考えられる。前述のトリペプチドの1種または2種以上の混合物を有効成分とした薬剤が皮膚に塗布あるいは投与された場合、皮膚の保湿効果を発揮しつつ、痒みを伴った病態の治療と予防に貢献でき

る。このため、前述のトリペプチドの1種または2種以上の混合物は、総合的なスキンケア用医薬品となり得る。

【0044】前述のトリペプチドの1種または2種以上の混合物を配合、処方した食品あるいは医薬品を、12日間連続的にラットへ経口摂取させたところ、皮膚中のコラーゲン産生が増進すると同時に、大腿骨の骨密度ならびに破断強度が向上した。これらの結果は、本発明によるトリペプチドによる前述の線維芽細胞および骨芽細胞のコラーゲン産生促進作用と一部関連した効果であると考えられるが、より高度で副次的な生理活性が発揮されていると推定される。

【0045】このように、前述のトリペプチドを配合、処方した食品あるいは医薬品は骨の強化または密度向上剤、皮膚賦活剤、皮膚または骨の加齢による機能低下の予防または改善剤、骨粗鬆症の予防または改善剤、骨折治癒または創傷治癒の促進剤、および創傷治癒に寄与する培養皮膚または人工皮膚の生成促進剤としての用途がある。

【0046】本発明に係る食品は、健康食品、健康補助食品あるいは機能性食品、病者用食品や高齢者用食品などの特定用途食品、あるいは栄養機能食品や特定保健用食品などの保健機能食品であっても良い。また、本発明に係る食品は、前述のトリペプチドを0.005重量%以上含むことにより、効果的にその機能を発揮する。

【0047】本発明に係る化粧品は、化粧水、乳液、クリーム、軟膏、パック、エアゾル、水-油二層系剤、水-油-粉末三層系剤、美容液、ジェル、ファンデーション、口紅、シャンプー、リンス等のいずれであってもよい。また、本発明に係る化粧品は前述のトリペプチドを0.005重量%以上含むことにより、効果的にその機能を発揮する。

【0048】本発明に係る医薬品は、ドリンク剤、錠剤、カプセル剤などの剤形を問わない。また、本発明に係る医薬品の範疇には、医薬部外品なども含まれる。本発明に係る医薬品は、前述のトリペプチドを0.005重量%以上含むことにより、効果的にその機能を発揮する。本発明に係る医薬品および薬剤は、その形態、態様に応じて、経口投与、肛門投与、静脈注射、皮下注射、骨髄注射などいずれの投与方法で投与されてもよいが、経口投与が好ましい。本発明に係る医薬品および薬剤は、甘味料、香料その他の添加剤を含んでいてもよい。

【0049】本発明に係る生体組織の新陳代謝促進剤は、摂取あるいは投与により生体組織の新陳代謝を促進する。本発明に係る皮膚賦活剤は、摂取あるいは投与により皮膚を賦活させる。

【0050】本発明に係る痒み抑制剤は、摂取あるいは投与により皮膚などの痒み、掻痒感を軽減ないしは解消させる。本発明に係る皮膚または骨の加齢による機能低下の予防または改善剤は、摂取あるいは投与により皮膚

または骨の加齢による機能低下を予防または改善する。本発明に係る骨粗鬆症の予防、治療または改善剤は、摂取あるいは投与により骨粗鬆症を予防または改善する。本発明に係る皮膚疾患の予防または改善用外用剤、人工透析による皮膚掻痒感の改善用外用剤、アトピー性皮膚炎による皮膚掻痒感の改善用外用剤、皮膚のテープかぶれの予防または改善用外用剤および糖尿病による皮膚のひび割れの改善用外用剤は、皮膚への外用により機能を発揮する。

10 【0051】特に、本発明に係る皮膚のテープかぶれの予防または改善用外用剤は、各種疾患患者の治療時において使用されるテープ剤によって引き起こされる皮膚のテープかぶれ、テープ貼付による痒みないしは痛みの誘発を予防ないしは改善する。人工透析による皮膚掻痒感の改善用外用剤またはアトピー性皮膚炎による皮膚掻痒感の改善用外用剤は、人工透析患者あるいはアトピー性皮膚炎患者における皮膚掻痒感を軽減あるいは改善する。糖尿病による皮膚のひび割れの改善用外用剤は、糖尿病患者の足病変部位のひび割れを軽減あるいは改善する。

20 【0052】本発明に係る慢性関節リウマチまたは変形関節症の予防、治療または改善剤は、摂取あるいは投与により慢性関節リウマチまたは変形関節症を改善する。本発明に係る骨折治癒剤は、摂取あるいは投与により骨折治癒を促進する。本発明に係る創傷治癒剤は、摂取あるいは投与により創傷治癒を促進したり、あるいは創傷治癒に利用されている培養皮膚あるいは人工皮膚の生成速度を促進したりする。

30 【0053】(調製法) 前述のコラーゲントリペプチドに関する調製法は、以下の(1)～(5)のいずれの方法であってもよい。

(1) コラーゲンまたはゼラチンをコラゲナーゼ酵素によって分解した後、ゲル濾過クロマト(クロマトグラフィー)法、逆相クロマト法、イオン交換クロマト法、疎水クロマト法あるいはアフィニティークロマト法などを組み合わせて精製される方法

(2) 同様に、コラーゲンまたはゼラチンをコラゲナーゼ酵素によって分解した後、適当な溶媒、例えばメタノール、エタノール、アセトニトリルなどのアルコール系溶媒を用いた抽出法によって分画する方法

(3) (1)の精製方法と(2)の分画方法とを組み合わせた方法

(4) アミノ酸をベースとして用いたペプチド合成技術/発酵技術によって調製する方法

(5) (4)の方法と、(1)の精製方法および(2)の分画方法とを組み合わせた方法。

50 【0054】従って、前述のコラーゲントリペプチドの出発原料としては、a.各種動物由来のコラーゲンまたはゼラチン、b.合成法あるいは発酵法などによって得られたアミノ酸などを用いることができる。一方で、将来、

遺伝子工学的手法を駆使して、該当するアミノ酸配列を有するトリペプチドを産生するベクターを調製し、大腸菌、放線菌、酵母などに作らせることも可能であると考えられる。

【0055】上記a.各種生物由来のコラーゲンまたはゼラチンとしては、牛、豚、鳥、鯨その他の鳥獣類の骨、軟骨、皮、腱、または鮭、鮫その他の魚類の魚皮、ウキブクロ、ウロコなどを原料として調製されたコラーゲンまたはゼラチンを用いることができる。その分解に使用するコラゲナーゼ酵素には、Clostridium histolyticum、Bacillusなどの細菌、Streptomyces parvulusなどの放線菌、乳酸菌、酵母または真菌など由来で、コラーゲン特有のアミノ酸配列：(Gly-X-Y)_nのグリシンのアミノ基側を特異的に切断する酵素を用いることが好ましい。

【0056】また、コラゲナーゼ酵素は、これらの酵素遺伝子を遺伝子工学的に特定のベクターに組み込んで、乳酸菌や酵母などの他の菌体または動物に産生させて得られた遺伝子組み替えによる酵素で、類似の基質特異性を有するコラゲナーゼ様酵素であってもよい。その際のコラゲナーゼ酵素は遊離の形で使用しても良いし、コラゲナーゼ酵素を物理吸着法または化学結合法によって各種の担体に結合させた固定化酵素として使用しても良い。また、コラゲナーゼ酵素による酵素分解の方法には、バッチ法、カラム法またはこの両者を組み合わせた方法などがあるが、これらの方法と使用するコラゲナーゼ酵素の形態との組み合わせは、いろいろな方式を採用することが可能である。詳しくは特開平7-82299に記載している方法に準じて実施すれば良いが、敢えてこれにとらわれる必要はない。

【0057】前記の「(4)アミノ酸をベースとして用いたペプチド合成技術／発酵技術によって調製する方法」としては、ペプチド合成において通常用いられる方法、例えば固相合成法または液相合成法を用いることができるが、固相合成法が操作上簡便である（例えば、日本生化学会編「続生化学実験講座2 タンパク質の化学（下）（昭和62年5月20日 東京化学同人発行、第641～694頁参照）。しかしながら、敢えて固相合成法にとらわれる必要はない。

【0058】以下、実施例により本発明を詳細に説明するが、この実施例は、本発明の範囲を何ら制限するものではない。また、前述のトリペプチドを化粧品、食品または医薬品に配合する方法は、既に公知となっている操作方法に準じて実施することができる。

【0059】

【実施例】高純度ゼラチン（宮城化学工業社製）50gを1,000mlの20mM Tris-HCl緩衝液（pH 7.4）／0.1M NaClに加温しながら溶解後、50℃に冷却した。酵素分解用の固定化酵素は、100mgのコラゲナーゼ酵素（ワシントン社製、type I Vから精製した）を50gの粒子

担体に結合させて調製した。担体への結合量は結合前後の280nmにおける吸光度の変化を計測して算出したが、99%以上の結合率であった。使用時、本固定化酵素をカラム式バイオリアクターに充填し、20mM Tris-HCl緩衝液（pH 7.4）／0.1M NaCl緩衝液で良く洗浄・平衡化を行った。

【0060】準備したゼラチン溶解液を、上記工程で調製されたコラゲナーゼ酵素固定化カラムにアプライし、カラム法による酵素分解を行った。この間、流速は毎分20～60mlに、また、カラムの温度は39±1℃にコントロールした。カラムから出てきた酵素反応終了液を分取し、0.45μmのフィルターでろ過を行い、そのろ液を粉末化した。このような工程を経て、コラーゲントリペプチド含量が36重量%の粉末を得ることができた。

【0061】このコラーゲントリペプチド粉末を再溶解後、ゲルろ過装置（商品名「スーパーデックス30pg」、ファルマシア社製）を用いたゲルろ過法、およびODSカラム（ワイエムシー社製）を用いた逆相クロマトグラフィー法を組み合わせることによって、各々のコラーゲントリペプチド画分を精製した。更に、単一のコラーゲントリペプチド成分を得る場合には、イオン交換クロマト法およびカーボンカラム（ワイエムシー社製）を用いたクロマトグラフィー法を組み合わせることによって精製した。

【0062】精製された各コラーゲントリペプチド成分について、アミノ酸配列はエドマン分解法によるプロテインシーケンサー（商品名「Shimadzu PSQ-1」）によって分析し、分子量は液体クロマトーマススペクトル法（LC-MS）によって同定し、各トリペプチドのアミノ酸配列と分子量を決定した。また、アミノ酸をベースとして用いたペプチド合成法によって得られたコラーゲントリペプチドは、必要によって精製操作を加えた後、前述と同様の分析方法によって各トリペプチドのアミノ酸配列と分子量を決定した。

【0063】得られたコラーゲントリペプチドは、用途によって単一成分として使用しても良いし、あるいは用途において適切な成分を混合した複合成分品として使用することもできる。従って、コラーゲントリペプチドの製造方法に関しても、これらの用途ならびにその生産量を踏まえて、その製造方法を適宜選択することができる。同時に、両者から得られたコラーゲントリペプチド成分を組み合わせ使用することもできる。

【0064】

【試験例1】＜体内動態試験＞実施例により得られたコラーゲンペプチド（Gly-Pro-Hyp）を放射性同位元素：トリチウム（³H）で標識したもの（以下、「試料1」という）、（Gly-Pro-Ala）、（Gly-Pro-Hyp）、（Gly-Pro-Leu）、（Gly-Pro-Lys）および（Gly-Pro-Ser）を放射性同位元素：トリチウム（³H）で標識・混

合したもの（以下、「試料-・」という）、または比較対照のために、同じく放射性同位元素：トリチウム（ ^3H ）で標識したプロリン（以下、「コントロール試料」という）をそれぞれラットに経口投与し、（１）血漿中放射能濃度の測定を行うとともに、（２）全身オートラジオグラフィー（ARG）により、被験物質のラット体内における吸収および分布について検討した。

【0065】（１）血漿中放射能濃度の測定
血漿中放射能濃度の測定の結果、試料-・および試料-・を経口投与後、すでに５分後において血漿中放射能濃度は1.4および2.2 $\mu\text{g eq.}/\text{mL}$ を示し、その後、経時的に上昇し、最大濃度：42.7および54.4 $\mu\text{g eq.}/\text{mL}$ に達した。次いで、徐々に低下する様子が観察され、これら試料-・および試料-・のコラーゲントリペプチドは、対照であるアミノ酸（プロリン、コントロール試料）よりも、吸収速度が速いことが確認された。

【0066】（２）全身オートラジオグラフィー（ARG）

上記の体内動態試験に供したラットをエーテル麻酔死させた後、全身オートラジオグラムを作成し、各種組織への放射能分布および経時変化について検討した。その代表的な結果として、試料-・を投与したARGを図1（A）に示した。1回投与24時間後の全身オートラジオグラムにより、骨髄、骨膜、胸腺、消化管、粘膜、腱などへの分布が確認された。図1（B）、（C）に示すように、投与回数5回、12回のARGでは、さらに、分布密度が濃く観察され、各組織への分布が明らかとなった。

【0067】

【試験例2】＜コラーゲン産生促進作用の確認＞ヒト皮膚線維芽細胞を10%FBS含有DMEM培地で48時間培養し、コンフルエントになった後、各試料を含んだ0.5%FBS含有Eagle MEM培地に交換して、さらに72時間培養した。培養終了後に、I型コラーゲン合成能を測定するためにそれぞれの培養上清を採取した。試料であるコラーゲントリペプチドとしては、試料(A)：(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)および(Gly-Pro-Ser)の混合品、試料(B)：(Gly-Ala-Ala)、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Asp)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Ala-Ser)、(Gly-Ala-Val)、(Gly-Asp-Ala)、(Gly-Asp-Thr)、(Gly-Gln-Glu)、(Gly-Gln-Hyp)、(Gly-Gln-Ser)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)、(Gly-Pro-Hyl)、(Gly-Pro-Gln)、(Gly-Pro-Met)、(Gly-Pro-Ile)、(Gly-Pro-Lys)、(Gly-Pro-Pro)、(Gly-Pro-Ser)、(Gly-Pro-Thr)、(Gly-Pro-Val)、(Gly-Ser-Ala)、(Gly-Ser-Glu)、(Gly-Ser-Hyp)、(Gly-Lys-Asp)、(Gly-Lys-Pro)、(Gly-Lys-Ser)、(Gly-

Leu-Hyp)、(Gly-Val-Hyp)および(Gly-Val-Arg)の混合品を使用した。

【0068】なお、試料である本試験例のコラーゲントリペプチドの濃度は、0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ または3.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を用いて検討した。対照試料としては、優れたコラーゲン産生促進作用が知られている0 μM または1 μM ビタミンC (ASA)を用いて、同様の試験を行った。細胞のI型コラーゲン生成能は、培養上清中に分泌されるtype I コラーゲン量を、ウサギ抗ヒトtype I コラーゲン抗血清を用いたELISA法により測定した。

【0069】その結果、図2に示すように、

（１）コラーゲントリペプチドの試料(A)あるいは試料(B)の単独添加により、コラーゲン産生能が上昇する。

（２）さらに、1 μM ASA単独添加によりコラーゲン産生が誘導される。

（３）コラーゲントリペプチドの試料(A)あるいは試料(B)は、ASA添加によって誘導されるコラーゲン産生をさらに増強することなどが明らかとなった。

【0070】前記の試験例から、コラーゲントリペプチドはコラーゲン産生促進作用に優れることが明らかになった。この結果により、前述のコラーゲントリペプチドは優れたコラーゲン産生促進作用を有し、化粧品、食品あるいは医薬品などに配合/処方した場合、皮膚のしわやたるみに対して優れた効果を発揮することが明らかとなった。

【0071】さらに、前述のトリペプチドのコラーゲン産生促進作用などを踏まえた皮膚などへの副次的な作用としては、保湿効果、痒み抑制作用、創傷治癒作用、抗老化作用あるいはシワ抑制作用、荒れ肌の抑制作用あるいは改善作用、皮膚の加齢による機能低下の予防または改善作用、生体組織の新陳代謝促進あるいは皮膚賦活作用、皮膚のテープかぶれの予防または改善作用、皮膚のひび割れの改善、人工透析者・アトピー性皮膚炎患者・高齢者・糖尿病患者あるいは老人性乾皮症者などのスキンケア作用などの作用、効果がある。

【0072】さらに、骨・軟骨組織あるいは関節などへの副次的な作用としては、骨の強化または密度向上、骨の加齢による機能低下の予防または改善、骨折治癒または創傷治癒の促進、慢性関節リウマチまたは変形関節症の予防、治療あるいは改善、骨折患者あるいは骨粗鬆症の予防、治療あるいは改善に適用、手術後の患者の治療などの作用がある。

【0073】このように、前述のトリペプチドを含有する化粧品、食品あるいは医薬品は、皮膚組織、骨・軟骨組織、結合組織、関節組織などの新陳代謝促進などに寄与することが示唆され、さらにこれらの組織と関連した各種疾患の予防、治療あるいは改善などに適用可能であることが判明した。

【0074】

【試験例3】＜骨芽細胞のコラーゲン合成促進作用＞

10

20

30

40

50

(1) コラーゲントリペプチド試料(A) : (Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp) および (Gly-Pro-Ser) の混合物

(2) コラーゲントリペプチド試料(B) : (Gly-Ala-Ala)、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Asp)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Ala-Ser)、(Gly-Ala-Val)、(Gly-Asp-Ala)、(Gly-Asp-Thr)、(Gly-Gln-Glu)、(Gly-Gln-Hyp)、(Gly-Gln-Ser)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)、(Gly-Pro-Hyl)、(Gly-Pro-Gln)、(Gly-Pro-Met)、(Gly-Pro-Ile)、(Gly-Pro-Lys)、(Gly-Pro-Pro)、(Gly-Pro-Ser)、(Gly-Pro-Thr)、(Gly-Pro-Val)、(Gly-Ser-Ala)、(Gly-Ser-Glu)、(Gly-Ser-Hyp)、(Gly-Lys-Asp)、(Gly-Lys-Pro)、(Gly-Lys-Ser)、(Gly-Leu-Hyp)、(Gly-Val-Hyp) および (Gly-Val-Arg) の混合物

(3) コントロール試料: 市販のコラーゲンペプチド (従来品)

の3種類について、骨芽細胞のコラーゲン合成促進作用を調べた。

【0075】すなわち、骨芽細胞を、5%牛胎児血清 (FBS) を含む Eagle-MEM 培地 (GIBCO 社製) で、5%CO₂ 存在下、37℃で24時間培養して試験用培養細胞とした。そして、FBS を含まないEagle-MEM 培地に交換し、上記の3種類の試料をそれぞれ最終濃度 20 μg/mL となるよう培地に添加して、37℃で3日間培養した後、ヒドロキシプロリンを定量することにより合成されたコラーゲン量を求めた。なお、ヒドロキシプロリンの定量は、培養細胞の破砕液を6N塩酸で加水分解し、Woessener の方法に従って p-ジメチルアミノベンズアルデヒドを用いて測定した。

【0076】その結果を図3に示す。図3に示すように、試料(A) あるいは試料(B) のコラーゲントリペプチドを添加して培養すると、コントロール試料である従来のコラーゲンペプチドに比較し、ヒドロキシプロリン量が格段に増加しており、骨芽細胞のコラーゲン合成が促進されていることが判った。

【0077】

【試験例4】<骨強化作用の確認>

a. 群) コラーゲントリペプチドを含まない群

b. 群) コラーゲントリペプチド試料(A) : (Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp) および (Gly-Pro-Ser) の混合物

c. 群) コラーゲントリペプチド試料(B) : (Gly-Ala-Ala)、(Gly-Ala-Arg)、(Gly-Ala-Asp)、(Gly-Ala-Hyp)、(Gly-Ala-Lys)、(Gly-Ala-Ser)、(Gly-Ala-Val)、(Gly-Asp-Ala)、(Gly-Asp-Thr)、(Gly-Gln-Glu)、(Gly-Gln-Hyp)、(Gly-Gln-Ser)、(Gly-Pro-Ala)、(Gly-Pro-Arg)、(Gly-Pro-Hyp)、(Gly-Pro-Hyl)、(Gly-Pro-Gln)、(Gly-Pro-Met)、(Gly-Pro-Ile)、(Gly-Pro-Lys)、(Gly-Pro-Pro)、(Gly-Pro-Ser)、(Gly-Pro-Thr)、(Gly-Pro-Val)、(Gly-Ser-Ala)、(Gly-Ser-Glu)、(Gly-Ser-Hyp)、(Gly-Lys-Asp)、(Gly-Lys-Pro)、(Gly-Lys-Ser)、(Gly-Leu-Hyp)、(Gly-Val-Hyp) および (Gly-Val-Arg) の混合物

d. 群) コントロール試料: 市販のコラーゲンペプチド (従来品)

e. 群) コラーゲントリペプチド試料(B) + カルシウム + ビタミンD 強化群

の合計5種類について、骨強化作用を調査するため、骨粗鬆症のモデル動物実験を実施した。

【0078】動物実験には6週齢のSD系雌性ラットを用いた。1週間の予備飼育後、卵巢摘出手術を施し、その後、低カルシウム食で2ヶ月間飼育して“骨粗鬆症モデルラット”とし、動物実験に供した。このラットを1群7匹毎に区分し、a 群) 対照群、b 群) コラーゲントリペプチド試料(A) 投与群、c 群) コラーゲントリペプチド試料(B) 投与群、d 群) 従来のコラーゲンペプチド投与群および e 群) コラーゲントリペプチド試料(B) + カルシウム + ビタミンD 強化投与群に分け、それぞれ表1に示した組成の試験飼料で1.5ヶ月間飼育した。

【0079】

【表1】

10

20

30

	a 群	b 群	c 群	d 群	e 群
精製大豆蛋白	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0
L-システイン	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
コーンスターチ	39.7	39.7	39.7	39.7	39.7
α化コーンスターチ	13.3	13.3	13.3	13.3	13.3
シュークロース	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
大豆油	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0
セルロースパウダー	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
重酒石酸コリン	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
ビタミン・ミネラル混合A	4.5	4.5	4.5	4.5	—
カルシウム・ビタミン強化B	—	—	—	—	4.5
コラーゲントリペプチド試料(A)	—	1.0	—	—	—
コラーゲントリペプチド試料(B)	—	—	1.0	—	1.0
コラーゲントリペプチド(従来品)	—	—	—	1.0	—

【0080】また、疑似手術を施し、卵巣を摘出していないシャムラット7匹(シャム群)についても同様の実験を行った。1. 5ヶ月後、各実験群のラットの大腿骨

を摘出し、破断強度測定装置(テクスチャーアナライザーTX型、SMS社製)で破断力を測定することにより骨強度を求めた。
【0081】図4で示されるように、(1)コラーゲントリペプチド(b群およびc群)の骨強度は、対照群(a群)および(2)コラーゲントリペプチド投与群(d群)に比較し、有意な骨強化作用があることが判った。また、吸収性の良好な乳由来カルシウムおよびビタミンDを併用したe群(c群にカルシウムとビタミンDを多く添加した群)では骨強化作用がさらに増強することが判った。

【0082】

【試験例5】<A. 皮膚痒痒感改善効果試験>人工透析患者を対象とし、透析患者の中で次の選択基準に達した被験者82名を対象とし、後述するCTPローション処方(a)について、以下に示す使用感テストを行った後、使用感および適用部位(皮膚)の痒み改善効果等について調査した。なお、以下に示す、種々の疾患のモニターあ

配合成分

コラーゲントリペプチド
グリチルリチン酸ジカリウム
グリセリン
ヒアルロン酸
1,3-ブチレングリコール
防腐剤
純水

配合量(重量%)

0.5
0.1
5.0
0.01
5.0
適量
残余

【0086】<製法>純水にコラーゲントリペプチドとグリチルリチン酸ジカリウムを加えて溶解した。これに、グリセリン、1,3-ブチレングリコールに防腐剤を溶解した液を徐々に攪拌しながら添加し、最後にヒアルロン酸を加えてよく攪拌し、CTPローション処方(a)を得

* るいは患者による使用感テストなどの試験は、各人の同意を取ると同時に、インフォームドコンセントなどの所定の手続きを経た上で実施した。

【0083】(1) 被験者の選択

(a) 年齢20～80歳の男女

(b) 本テストに不適当と考えられる皮膚疾患等の既往歴のない者

(c) 本テストに不適当と考えられる薬物等に対するアレルギー症または特異体質、麻薬中毒・アルコール中毒の既往歴のない者

(d) CTPローションおよび本テストの目的・内容について十分な説明を受け、よく理解のうえ自発的に志願した者で、書面で本テスト参加の同意をした者

【0084】(2)CTP ローション処方(a)

表2に示す処方により、コラーゲントリペプチドを含むローションを調製した。なお、コラーゲントリペプチドには、前記試験例2の試料(B)のコラーゲントリペプチドを用いた。

【0085】

【表2】

※た。

【0087】(3) 使用方法

CTPローション処方(a)を痒みあるいは皮膚乾燥の気になる部位に数滴滴下し、手のひらで広げる。1日の使用回数は起床時、就寝前の2回を最低限とし、必要に応じ随

時回数を増やし、各人が2週間試用した。

【0088】(4)評価判定基準

皮膚の痒みの状態および改善度合などを使用開始前、使用開始1週間後、使用開始2週間後に評価判定を行い、アンケート用紙に記入した。痒みの程度を、「A. 非常にある、B. ある、C. 少しある、D. ない」の4段階に、また使用前と比較した改善度合を「A. かなり改善された、B. 改善された、C. やや改善された、D. 変化なし、E. 悪化した」の5段階に分類し、各人が記録用紙に記入した。

【0089】これらの実使用試験の結果を、図5に示す。図5の結果から、本試験例のCTPローション処方(a)を用いた場合には、皮膚の痒みが明らかに改善されていることが認められる。なお、CTPローション処方(a)からコラーゲントリペプチドだけを外したコントロール処方では、このような効果は殆ど認められなかった。このことにより、本試験例のトリペプチドを有効成分として配合した皮膚外用剤（皮膚疾患の予防または改善外用剤）※

配合成分

コラーゲントリペプチド
グリセリン
ヒアルロン酸
1,3-ブチレングリコール
防腐剤
純水

配合量（重量%）

0.5
5.0
0.01
5.0
適量
残余

【0093】＜製法＞純水にコラーゲントリペプチドを加えて溶解した。これに、グリセリン、1,3-ブチレングリコールに防腐剤を溶解した液を徐々に攪拌しながら添加し、最後にヒアルロン酸を加えてよく攪拌し、CTPローション処方(b)を得た。

【0094】(3)使用方法

皮膚の同一個所について、医療用テープを「一度貼付した後、30秒以内に剥がす」行為を都合7回繰り返す、人為的にテープかぶれを誘導させた。次いで、CTPローション処方(b)を、テープかぶれを誘導した部位に数滴滴 ※

*剤）は、皮膚の痒み防止効果あるいは痒み改善効果などをもたらす外用剤であることが明らかとなった。

【0090】

【試験例6】＜B. 皮膚のテープかぶれ改善効果／防止効果試験＞健康人12名を対象とし、後述するCTPローション処方(b)について、以下に示すテープを貼付した部位（皮膚）におけるテープかぶれの改善効果および防止効果等について調査した。

【0091】(1)被験者の選択

10 (a) 健康人：年齢20～63歳の男女12名

(2)CTPローション処方(b)

表3に示す処方により、コラーゲントリペプチドを含むローションを調製した。なお、コラーゲントリペプチドには、前記試験例2の試料（B）のコラーゲントリペプチドを用いた。

【0092】

【表3】

※下し、手のひらで広げた。

【0095】(4)評価判定基準

テープかぶれを誘導した部位の状態およびCTPローション処方(b)を塗布した場合の改善度合などを試験用紙に記入した。改善度合を「A. かなり改善された、B. 改善された、C. やや改善された、D. 変化なし、E. 悪化した」の5段階に分類し、各人が記録用紙に記入した。これらの実使用試験の結果を、表4に示す。

【0096】

【表4】

テープかぶれに対する改善効果（人）					
	A	B	C	D	E
CTPローション処方(b)	9	2	1	0	0
コントロール処方	0	2	3	6	1

【0097】表4の結果から、表3に示す処方のCTPローション処方(b)を用いた場合には、皮膚のテープかぶれが明らかに改善されていることが認められる。なお、CTPローション処方(b)からコラーゲントリペプチドだけを外したコントロール処方では、このような効果はそれ程認められなかった。このことにより、本試験例のトリペプチドを有効成分として配合した皮膚外用剤（皮膚疾患の予防または改善外用剤）は、皮膚のテープかぶれ改善効果などをもたらす外用剤であることが明らかとなった。

【0098】CTPローション処方(b)に関する効果に関し★50

40★て更に驚くことには、医療用テープを貼付する前にCTPローション処方(b)を塗布しておくことで、医療用テープによるテープかぶれを防止できることであり、CTPローション処方(b)には皮膚のテープかぶれの予防効果があることも判明した。

【0099】

【試験例7】＜C. 糖尿病患者足病変のひび割れ改善効果試験＞糖尿病患者14名を対象とし、後述するCTPクリームについて、以下に示す使用感テストを行った後、使用感および足病変箇所（皮膚）のひび割れ改善効果等について調査した。

【0100】(1)被験者の選択

(a) 年齢60～80歳の男女

(b) 本テストに不適当と考えられる皮膚疾患等の既往歴のない者

(c) 本テストに不適当と考えられる薬物等に対するアレルギー症または特異体質、麻薬中毒・アルコール中毒の既往歴のない者

(d) 本テストの目的・内容について十分な説明を受け、よく理解のうえ自発的に志願した者で、書面で本テ*

配合成分

コラーゲントリペプチド

純水

親水軟膏

【0103】＜製法＞純水にコラーゲントリペプチドを加えて溶解した。これを、乳鉢中に入れた親水軟膏に少しずつ添加しながら乳化させた。その後、ホモミキサーで均一に乳化し、よく攪拌しながらクリームを得た。

【0104】(3) 使用方法

CTPクリームを足病変のひび割れ個所に塗り込んだ。1日の使用回数は最低限、起床時および就寝前の2回とし、入浴時のお風呂上がりには追加実施して、塗布した。

【0105】(4) 評価判定基準

皮膚のひび割れおよび乾燥の状態および改善度合などを使用開始前、使用開始1週間後、使用開始2週間後に評価判定を行い、アンケート用紙に記入した。ひび割れの程度を、「A. 非常にある、B. ある、C. 少しある、D. ない」の4段階に、また使用前と比較した改善度合を「A. かなり改善された、B. 改善された、C. やや改善された、D. 変化なし、E. 悪化した」の5段階に分類し、各人が記録用紙に記入した。

【0106】これらの実使用試験の結果を、図6に示した。図6の結果から、本試験例のCTPクリームを用いた場合には、皮膚のひび割れが明らかに改善されていることが認められる。なお、CTPクリームからコラーゲントリペプチドだけを外した親水軟膏だけでは、このような効果は低かった。このことにより、本試験例のトリペプチドを有効成分として配合した皮膚外用剤（皮膚疾患の予防または改善用外用剤）は、皮膚のひび割れ改善効果などをもたらす外用剤であることが明らかとなった。

【0107】以上のとおり、試験例5、試験例6および試験例7の結果から、コラーゲントリペプチドには、皮膚掻痒感の改善効果、テープかぶれの防止効果および改善効果、ひび割れ改善効果が認められ、コラーゲントリペプチドを用いることにより、極めて安全性に優れた皮膚外用剤（皮膚疾患の予防または改善用外用剤）を提供※

* スト参加の同意をした者

【0101】(2) CTPクリームの処方

表5に示す処方により、コラーゲントリペプチドを含むローションを調製した。なお、コラーゲントリペプチドには、前記試験例2の試料（B）のコラーゲントリペプチドを用いた。

【0102】

【表5】

配合量（重量%）

2.0

5.0

残余

※することができる。

【0108】

【配合例1】（栄養飲料）前記試験例2の試料（B）のコラーゲントリペプチド50mg、ビタミンC100mg、乳酸カルシウム50mg、果糖ブドウ糖液糖12g、クエン酸1g、香料0.5gに精製水（100mL）を添加、混合し、常法により飲料を作成した。これにより、以下に示すように、皮膚賦活効果に優れた栄養飲料が得られた。

【0109】＜皮膚賦活効果の確認＞飲料ー：配合例1により作成したコラーゲントリペプチドを用いて調製した飲料、飲料ー：飲料ーでコラーゲントリペプチドに代えて、熱変性コラーゲン（ゼラチン）を用いて調製した飲料、飲料ー：飲料ーでコラーゲントリペプチドに代えて、市販のコラーゲンペプチドを用いて調製した飲料、飲料ー：飲料ーでコラーゲントリペプチドを除いて調製した飲料（プラセボ）の4種を被験試料として用意した。

【0110】年齢25～60才の健常人64名の被験者を4群に分け、飲料ー～飲料ーの各飲料を各群の被験者に30日間（100mL/日）摂取させた後、肌の状態の変化について調査した。調査項目は、a. 被験者の前腕皮膚の角層水分含量およびTEWL（皮膚不感蒸散水分量）（試験開始前と終了後の比較）、b. 肌のハリ、c. しわの3項目とした。a. については、皮表角層水分量測定装置（IBS社製、SKICON-200）および水分蒸発量測定装置（CORTEX社製、DermaLab）を用いて測定を行った。その結果を表6に示す。b. c. については、以下の評価基準に基づき、アンケート調査（被験者の感想）を実施した。その結果を表7に示す。

【0111】

【表6】

33

34

飲 料	皮膚の角層水分含量 (μ S)			TEWL抑制効果 (有意差)
	試験開始前	試験終了後	上昇効果(有意差)	
①	52.4 \pm 6.8	59.5 \pm 5.9	有: Δ 7.1*	有: 13.2% 抑制**
②	53.1 \pm 5.6	54.4 \pm 7.1	無	無
③	53.4 \pm 5.6	54.1 \pm 6.2	無	無
④	52.8 \pm 8.5	53.0 \pm 7.3	無	無

* $p<0.10$ ** $p<0.01$

【0112】表6に示すように、被験者の前腕皮膚の角層水分量変化を調査した結果、飲料- (プラセボ) および飲料-、-を摂取した被験者の皮膚の角層水分量については、試験前後で有意差が認められなかったが、本発明によるところのコラーゲントリペプチドを配合した飲料-を摂取した被験者の皮膚の角層水分量は、試

[評価基準]

- A. 改善された
- B. やや改善された
- C. 変化なし(改善効果が認められない)
- D. やや悪化した
- E. 悪化した

* 試験終了後、試験前と比較し有意な上昇が認められた。さらに、コラーゲントリペプチドを含む飲料-では、有意なTEWL抑制効果も確認された。

【0113】

【表7】

飲 料	肌のハリ					しわ				
	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
①	5	5	7	0	0	3	7	7	0	0
②	1	1	10	3	0	0	3	11	1	0
③	0	2	12	2	0	1	2	13	0	0
④	0	1	13	2	0	0	2	12	2	0

(人)

【0114】b. 肌のハリ、c. しわ、に対するアンケート調査の結果、飲料- (プラセボ群) や比較対照群(飲料-、飲料-) よりも、コラーゲントリペプチドを含む飲料-を摂取した被験者の方が肌のハリやしわの改善を実感したことが明らかとなった。

【0115】

【配合例2】(栄養補助食品) 前記試験例2の試料(B)のコラーゲントリペプチド50mg、乳糖60mg、ビタミンC50mg、蔗糖脂肪酸エステル30mg、乳酸カルシウム60mgを混合した後、加圧成形し、錠剤とした。これにより、骨粗鬆症の予防・改善などに寄与する、栄養補助効果に優れた錠剤が得られた。

【0116】

【発明の効果】本発明によれば、少量の摂取でも効率よく、速やかに消化吸収されるコラーゲン産生促進剤、それを含む食品、化粧品、医薬品、骨芽細胞または線維芽細胞の増殖促進剤、骨の強化または密度向上剤、生体組織の新陳代謝促進剤、皮膚賦活剤、皮膚または骨の加齢による機能低下の予防または改善剤、骨粗鬆症の予防または改善剤、慢性関節リウマチまたは変形関節症の改善剤、骨折治癒または創傷治癒の促進剤、皮膚疾患の予防または改善外用剤、人工透析による皮膚掻痒感の改善外用剤、アトピー性皮膚炎による皮膚掻痒感の改善外用剤、皮膚のテープかぶれの予防または改善外用剤および糖尿病による皮膚のひび割れの改善外用剤を提供することができる。本発明の食品、化粧品および医薬

※品は、コラーゲン産生促進、骨芽細胞または線維芽細胞の増殖促進、骨強化、骨密度の向上、骨粗鬆症の予防・改善、皮膚賦活、新陳代謝促進、皮膚または骨の加齢による機能低下の予防または改善、骨粗鬆症の予防または改善、慢性関節リウマチや変形関節症の改善、骨折治癒または創傷治癒の促進、皮膚疾患の予防または改善、人工透析による皮膚掻痒感の改善、アトピー性皮膚炎による皮膚掻痒感の改善、皮膚のテープかぶれの予防または改善、糖尿病による皮膚のひび割れの改善、培養皮膚あるいは人工皮膚の生成促進などの機能を有し、有用である。

【図面の簡単な説明】

【図1】コラーゲントリペプチドの(A)1回投与、(B)5回投与、(C)12回投与による24時間後のラット体内における吸収および分布を示す全身オートラジオグラフィーの図である。

【図2】アスコルビン酸(ビタミンC)の無添加培養液群: (A)群および添加培養液群: (B)群において、コラーゲントリペプチド(0または3 μ g/mL)を添加し、それぞれの培養液中でヒト正常線維芽細胞を48時間培養した。培養終了後、上清中に分泌されたコラーゲンの濃度を示すグラフである。

【図3】(1)コラーゲントリペプチド試料(A)、(2)コラーゲントリペプチド試料(B)、(3)市販のコラーゲンペプチドをそれぞれ培地に添加して骨芽細胞を培養したとき合成されたヒドロキシプロリンの量を示

すグラフである。

【図4】(a) 対照群、(b) コラーゲントリペプチド試料(A) 投与群、(c) コラーゲントリペプチド試料(B) 投与群、(d) 従来のコラーゲンペプチド投与群、(e) コラーゲントリペプチド試料(B) + カルシウム + ビタミンD強化投与群とをそれぞれ飼料として飼育したSD系雌性ラットの大腿骨の破断力を示すグラフであ

【図1】

(A)



<投与24時間後(投与回数: 1回)>

(B)



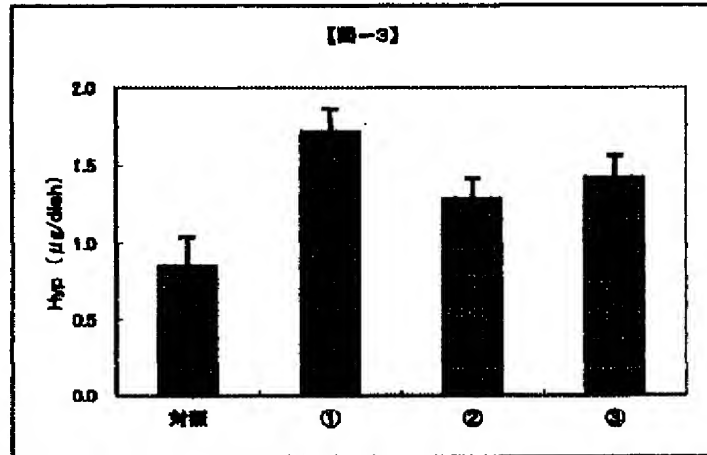
<投与24時間後(投与回数: 5回)>

(C)

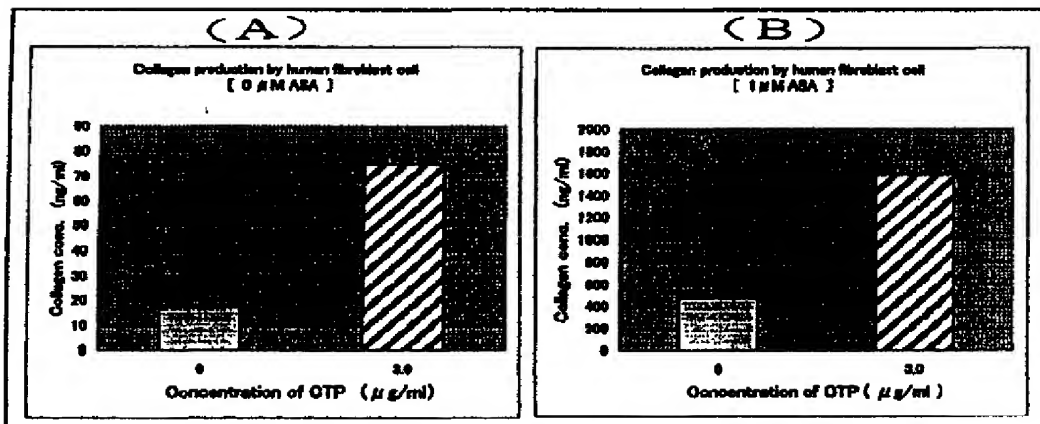


<投与24時間後(投与回数: 12回)>

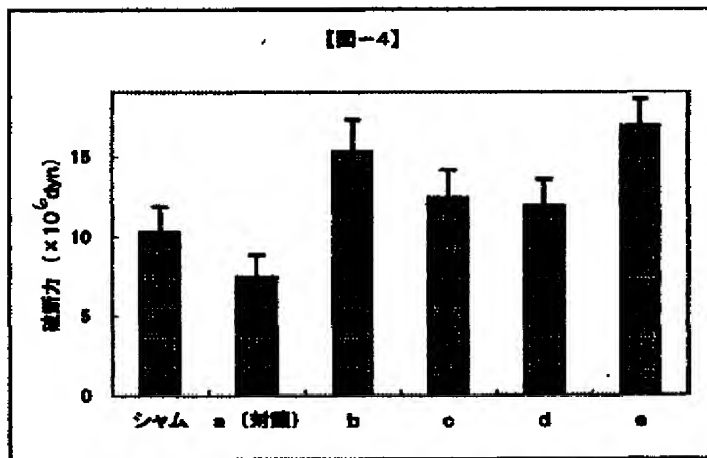
【図3】



【図2】

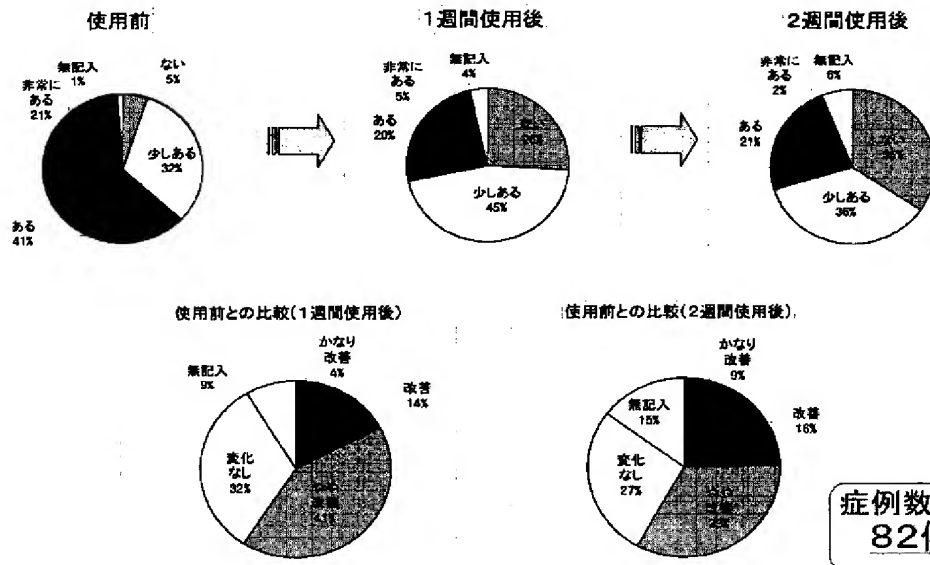


【図4】

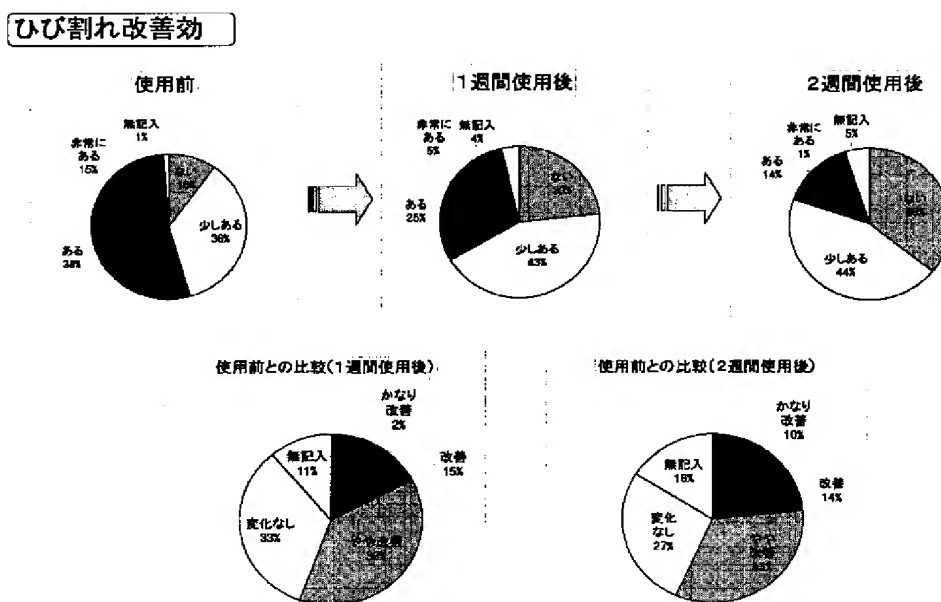


【図5】

かゆみ



【図6】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁷

識別記号

F I

デマコト¹(参考)

A 6 1 K 31/728

A 6 1 K 33/06

33/06

A 6 1 P 17/00

A 6 1 P 17/00

17/02

17/02

17/04

17/04

17/16

17/16

19/02

19/02

19/08

19/08

19/10

19/10

37/08

37/08

43/00

43/00

1 0 7

A 6 1 K 7/00

1 0 7

C

// A 6 1 K 7/00

7/48

7/48

C 0 7 K 5/083

Z N A

C 0 7 K 5/083

Z N A

A 6 1 K 37/02

37/18

F ターム(参考) 4B018 LE01 MD20 MD22 ME05 ME07
ME10 ME14 MF12 MF14
4C083 AC122 AD331 AD332 AD411
AD412 AD431 AD531 AD532
AD641 AD651 CC02 CC04
CC05
4C084 AA02 BA15 BA23 CA59 MA02
MA52 MA63 NA14 ZA89 ZA96
ZA97 ZB13 ZB15 ZC21 ZC52
4C086 AA01 AA02 BA18 DA14 EA19
EA20 HA04 MA01 MA02 MA03
MA52 MA63 NA14 ZA89 ZA96
ZA97 ZB13 ZB15 ZB21 ZB22
ZC01
4H045 AA10 AA20 AA30 BA12 CA40
EA20 FA20 FA70 GA22 GA23
GA25

DERWENT-ACC-NO: 2003-818056**DERWENT-WEEK:** 200377*COPYRIGHT 2008 DERWENT INFORMATION LTD*

TITLE: Novel collagen production promoter containing a mixture of one,two or more types of tripeptides is useful in foodstuffs, cosmetics, pharmaceuticals and in prevention or treatment of dermatological disorders

INVENTOR: SAKAI Y**PATENT-ASSIGNEE:** MIYAGI KAGAKU KOGYO KK[MIYAN]**PRIORITY-DATA:** 2001JP-337062 (November 1, 2001)**PATENT-FAMILY:**

PUB-NO	PUB-DATE	LANGUAGE
JP 2003137807 A	May 14, 2003	JA

APPLICATION-DATA:

PUB-NO	APPL- DESCRIPTOR	APPL-NO	APPL-DATE
JP2003137807A	N/A	2001JP- 337062	November 1, 2001

INT-CL-CURRENT:

TYPE	IPC DATE
CIPP	A23L1/305 20060101

CIPS	A61K31/375	20060101
CIPS	A61K31/59	20060101
CIPS	A61K31/704	20060101
CIPS	A61K31/728	20060101
CIPS	A61K33/06	20060101
CIPS	A61K38/00	20060101
CIPS	A61K8/00	20060101
CIPS	A61K8/30	20060101
CIPS	A61K8/64	20060101
CIPS	A61K8/65	20060101
CIPS	A61K8/73	20060101
CIPS	A61P17/00	20060101
CIPS	A61P17/02	20060101
CIPS	A61P17/04	20060101
CIPS	A61P17/16	20060101
CIPS	A61P19/02	20060101
CIPS	A61P19/08	20060101
CIPS	A61P19/10	20060101
CIPS	A61P37/08	20060101
CIPS	A61P43/00	20060101
CIPS	A61Q19/00	20060101
CIPS	C07K5/083	20060101

ABSTRACTED-PUB-NO: JP 2003137807 A

BASIC-ABSTRACT:

NOVELTY - Collagen production promoter (I) containing the mixture of one, two or more types of tripeptides as an active ingredient, as new.

DESCRIPTION - (I) collagen synthesis promoter in osteoblast (II), bone strengthening or bone density

improvement agent (III), skin activator (IV), moisturizing (V), itching inhibitor (VI), wound healing agent (VII), anti-aging or wrinkle inhibitor (VIII), suppression or improving agent of rough skin (IX), fracture healing agent (X), metabolism promoter in living tissue (XI), prophylaxis of rheumatoid arthritis or osteoarthritis (XII), improving agent for lowering the aging of the skin (XIII), a topic dermatitis therapeutic agent (XIV), sensile xeroderma therapeutic agent (XV), prophylaxis or improving agent for osteoporosis (XVI), external preparation for improvement and prophylaxis of dermatological disorders (XVII), skin itching by hemodialysis (XVIII), skin itching of the atopic dermatitis (XIX), external preparation for improvement and prophylaxis of tape rash infection in the skin (XX), external preparation for improvement of the crack caused by diabetes (XXI) and preparation of artificial skin promoter (XXII), comprising mixture (XXIII) of one, two or more type of tripeptides as an active ingredients and the tripeptide is shown by a general formula (Gly-Ala-X1) where

An INDEPENDENT CLAIM is included for cosmetics, foodstuffs and pharmaceuticals containing (I).

X1 = Ala, Arg, Asp, Hyp, Lys, Ser or Val, (Gly-Ala-X2).

X2 = Ala or Thr, (Gly-Gln-X3);

X3 = Glu, Hyp or Ser, (Gly-Pro-X4);

X4 = Ala, Arg, Hyp, Hyl, Glu, Met, Ile, Lys, Pro, Ser, Thr or Val, (Gly-Ser-X5);

X5 = Ala, Glu or Hyp, (Glu-Ser-X6);

X6 = Asp, Pro, or Ser, (Glu-Leu-Hyp) or (Gly-Val-X7);

and

X7 = Hyp or Arg.

None given.

USE - (I) is useful for producing collagen and is also used in cosmetics, foodstuffs and pharmaceuticals. (XXIII) is used in (I)-(XXII) (claimed).

ADVANTAGE - (XXIII) has excellent digestion absorption property and efficient metabolism of collagen. (XXIII) also increases synthesis of collagen .

DESCRIPTION OF DRAWING(S) - The figure shows the graph which shows the concentration of collagen secreted in the supernatant liquid after the culture completion.

EQUIVALENT-ABSTRACTS:

BIOTECHNOLOGY

Preferred Promoter: (I)- (XXII) preferably contains the mixture of tripeptide shown by general formula (Gly-Ala-Arg), (Gly-Ala-Hyp), (Gly-Ala-Lys), (Gly-Pro-Ala), (Gly-Pro-Arg), (Gly-Pro-Hyp) and (Gly-Pro-Ser) as an active ingredients. (I) was obtained by (M2) which involves degrading gelatin using collagenase enzyme, refining and purifying. (I) was obtained by synthesis or fermentation technique using an amino acid. (III) contains calcium and/or vitamin D. (XVII) contains amino acid sequence obtain by (M2) in that Glycine arbitrary amino acid and (Gly-X-Y) as an active ingredient which contains glycyrrhetic acid ester or its derivatives, hyaluronic acid and an ascorbic acid or its derivatives. (XVIII) and (XIX)

contains glycyrrhetic acid ester or its derivatives and hyaluronic acid (XX) contains hyaluronic acid.

Tripeptide was obtained by heating high purity gelatin (50 g) which was mixed in 200 mM of Tris-Hcl buffer, and then cooled at 50 degrees C. The collagenase was immobilized on the carrier. The immobilized enzyme was packed in a column-type bioreactor. 20 mM Tris Hcl buffer /0.1M sodium chloride buffer was used for cleaning and eluting the column. The prepared gelatin was applied to column which was maintained at 39 degrees C. The enzymatic decomposition of the gelatin occurred in the column. The enzymatic reaction completion liquid was collected from the column at the flow rate of 20-60 ml per minute, and that was aliquoted. The aliquoted liquid was filtered and the filtrate was pulverized to obtain a collagen tripeptide powder which had 36 wt %. The collagen tripeptide powder was dissolved and subjected to gel-filtration. Each collagen tripeptide fraction was purified using ODS column and reverse-phase-chromatography, to obtain a single collagen tripeptide, which was purified by combining the chromatography method which used the ion-exchange and carbon column. Amino acid sequence of purified tripeptide was analyzed by protein sequencer using Edman degradation method, and molecular weight of tripeptide was detected by chromato-mass spectrum method. Human skin fibroblast is cultivated in Dulbecco modified eagle medium (DMEM) containing fetal calf serum (FBS) for 48 hours which was then sub cultured in eagle minimum essential medium (MEM) culture medium in the presence of tripeptides and the amount of collagen type I secreted was noted Collagen type I secretion was also noted when 1 microM of vitamin C was added to the cell cultivated in MEM culture medium containing a tripeptide. The result showed that the concentration of the collagen is increased by the individual addition of collagen

tripeptide and by the addition of vitamin C.

CHOSEN-DRAWING: Dwg.2/6

TITLE-TERMS: NOVEL COLLAGEN PRODUCE PROMOTE
CONTAIN MIXTURE ONE TWO MORE TYPE
USEFUL FOOD COSMETIC PHARMACEUTICAL
PREVENT TREAT DERMATOLOGY DISORDER

DERWENT-CLASS: B05 D13 D21

CPI-CODES: B04-C01A; B04-C02D; B07-D03; B10-A17; B10-B01B; B14-C03; B14-C09B; B14-L01; B14-N01; B14-N17; B14-R01; B14-S08; D03-H01T2; D08-B; D08-B09A;

CHEMICAL-CODES: Chemical Indexing M1 *02*
Fragmentation Code J0 J011 J1 J111
J3 J321 K0 L8 L814 L832 L834 M210
M211 M262 M280 M281 M320 M423 M431
M782 P420 P421 P423 P431 P714 P943
Q220 Q254 Specific Compounds R03231
R06437 Registry Numbers 97115

Chemical Indexing M2 *01*
Fragmentation Code F011 F012 F014
F423 H1 H100 H181 H2 H211 H4 H401
H421 H8 J0 J013 J1 J111 J3 J372 M280
M311 M315 M321 M333 M340 M342 M349
M381 M392 M413 M431 M510 M521 M530
M540 M782 P420 P421 P423 P431 P714
P943 Q220 Q254 Specific Compounds
RAC6S9 Registry Numbers 801598

Chemical Indexing M2 *03*
Fragmentation Code F011 F012 F014
F423 H1 H100 H181 H211 H401 H421 J0
J013 J1 J111 J171 J3 J372 L250 M280
M311 M314 M321 M322 M332 M342 M343
M349 M381 M392 M393 M413 M416 M431

M510 M521 M530 M540 M620 M782 P420
P421 P423 P431 P714 P943 Q220 Q254
Markush Compounds 011191607

Chemical Indexing M2 *04*
Fragmentation Code F011 F012 F014
F423 H1 H101 H182 H211 H401 H421
H481 J0 J013 J014 J1 J111 J171 J172
J3 J372 M280 M311 M312 M315 M321
M332 M342 M343 M349 M381 M392 M393
M413 M416 M431 M510 M521 M530 M540
M620 M782 P420 P421 P423 P431 P714
P943 Q220 Q254 Markush Compounds
011191606

Chemical Indexing M2 *05*
Fragmentation Code F011 F012 F014
F423 H1 H100 H181 H211 H4 H401 H402
H421 H481 H8 J0 J013 J014 J1 J111
J171 J172 J3 J372 M280 M311 M312
M313 M321 M322 M331 M332 M340 M342
M343 M349 M381 M392 M393 M413 M416
M431 M510 M521 M530 M540 M620 M782
P420 P421 P423 P431 P714 P943 Q220
Q254 Markush Compounds 011191605

Chemical Indexing M2 *06*
Fragmentation Code F011 F012 F013
F019 F423 F499 H1 H100 H101 H181
H182 H2 H211 H212 H401 H421 H481
H598 J0 J012 J013 J014 J111 J3 J311
J371 J372 L250 M210 M211 M271 M280
M281 M311 M312 M313 M314 M315 M321
M331 M332 M340 M342 M343 M344 M349
M381 M391 M392 M413 M431 M510 M521
M522 M530 M540 M782 P420 P421 P423
P431 P714 P943 Q220 Q254 Markush
Compounds 011191604

Chemical Indexing M2 *07*
Fragmentation Code F011 F012 F013
F423 H1 H100 H181 H211 H401 H421
H481 J0 J014 J1 J111 J171 J172 J3
J372 M280 M311 M312 M313 M321 M322
M332 M342 M343 M349 M381 M392 M393
M413 M416 M431 M510 M521 M530 M540
M620 M782 P420 P421 P423 P431 P714
P943 Q220 Q254 Markush Compounds
011191603

Chemical Indexing M2 *08*
Fragmentation Code H1 H100 H181 H401
H481 J0 J014 J1 J172 J3 J372 M280
M311 M312 M313 M321 M322 M331 M332
M340 M342 M343 M349 M381 M393 M416
M431 M620 M782 P420 P421 P423 P431
P714 P943 Q220 Q254 Markush
Compounds 011191602

Chemical Indexing M2 *09*
Fragmentation Code F011 F012 F014
F423 H1 H100 H101 H181 H182 H211
H401 H421 H481 J0 J012 J014 J111
J172 J3 J372 L250 M280 M311 M312
M314 M315 M321 M322 M331 M332 M333
M340 M342 M343 M349 M381 M392 M393
M413 M416 M431 M510 M521 M530 M540
M620 M782 P420 P421 P423 P431 P714
P943 Q220 Q254 Markush Compounds
011191601

SECONDARY-ACC-NO:

CPI Secondary Accession Numbers: 2003-228889